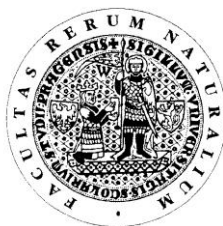


Studijní program: Klinická a toxikologická analýza



Adéla Patáková

Studium elektrochemické redukce kyseliny
chenodeoxycholové na stacionárních elektrodách na bázi
rtuti

The study of electrochemical reduction of chenodeoxycholic
acid at stationary mercury-based electrodes

Bakalářská práce

Vedoucí bakalářské práce: RNDr. Karolína Pecková, Ph.D.

Praha 2013

Tato bakalářská práce vznikla v souvislosti s řešením výzkumného záměru MSM0021620857.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

Jsem si vědoma toho, že případné využití výsledků získaných v této práci mimo Univerzitu Karlovu v Praze je možné pouze po písemném souhlasu této univerzity.

V Praze dne 4. září 2013.

Abstrakt

Kyselina chenodeoxycholová je nejhojnějším zástupcem žlučových kyselin v těle člověka. V této práci byla studována její elektrochemická redukce na stacionárních elektrodách na bázi rtuti metodami DC voltametrie a diferenční pulsní voltametrie. Použitými elektrodami byly rtuťovým meniskem modifikovaná tuhá stříbrná amalgámová elektroda (m-AgSAE) a visící rtuťová kapková elektroda (HMDE).

CDCA poskytuje v rozmezí pH 4,0 – 12,0 jeden redukční signál v oblasti vysoce záporných potenciálů kolem -1400 mV. Pro pufrý o nižším pH než 6,0 nastává výrazná změna v chování CDCA oproti ostatním hodnotám pH. Tato změna je pozorovatelná jak na m-AgSAE tak na HMDE metodami DC voltametrie a DPV. K této změně v chování dochází díky protonizaci karboxylové skupiny na C_{24} . Při pH 4,0 je tato změna nejvýraznější. CDCA byla proto dále studována ve dvou prostředích a to v $0,04 \text{ mol.l}^{-1}$ borátový pufr (pH 9,1) – methanol (9:1) a BR pufr (pH 4,0) – methanol (9:1). Pro obě prostředí bylo dosaženo nejnižších mezí detekce metodou DC voltametrie na HMDE.

Metoda cyklické voltametrie byla použita ke studiu elektrodového děje. Opět bylo provedeno měření pro pH 9,1 a 4,0. Pro pH 9,1 se jedná o quasireversibilní děj řízený adsorpcí na obou studovaných elektrodách. Pro pH 4,0 je pro nižší rychlosti děj řízený difúzí, což bylo prokázáno na obou elektrodách. Při vyšších rychlostech dochází k tvorbě protipíku, který netypicky vykazuje katodický proud. Obě elektrody vykazují v tomto pH analogické chování. Netypické chování CDCA při pH 4,0 by mohlo souviset s adsorpčními a desorpčními procesy na povrchu elektrody.

Abstract

Chenodeoxycholic acid is the most common representative of bile acids in the human body. This work studies its electrochemical reduction at stationary mercury-based electrodes using the DC voltammetry and differential pulse voltammetry. These were performed on a silver solid amalgam electrode modified by a mercury meniscus (m-AgSAE) and a hanging mercury drop electrode (HMDE).

On the scale of pH 4.0 – 12.0 offers CDCA one reduction signal in the area of highly negative potentials around -1400 mV. There is a distinctive change in the behavior of CDCA for buffers of pH lower than 6.0, compared to other pH values. This change is observable on both m-AgSAE and HMDE through the DC voltammetry and DPV methods. This happens due to protonization of carboxyl group on C₂₄. This change is strongest with pH of 4.0. For that reason, CDCA was studied in two environments – a 0.04 mol.l^{-1} borat buffer (pH 9.1) – methanol (9:1) and in a BR buffer (pH 4.0) – methanol (9:1). In both environments, the lowest detection threshold has been reached through the DC voltammetry method on HMDE.

The cyclic voltammetry method was used to study the electrode process. Again, measuring in pH 9.1 and pH 4.0 was done. For pH 9.1, this is a quasireversible process controlled by adsorption of both electrodes studied. For pH 4.0 is the process for lower polarization speeds controlled by diffusion, which was proved for both electrodes. During higher speeds, a negative peak is created, atypically showing cathodic current. Both electrodes are acting analogically in this pH. The atypical CDCA behavior during pH of 4.0 could be related to the adsorption and desorption processed on the surface of the electrode.

Předmětová hesla: analytická chemie
stacionární elektrody na bázi rtuti
voltametrie
žlučové kyseliny

Klíčová slova: chenodeoxycholová kyselina
DC voltametrie
diferenční pulsní voltametrie
rtuťovým meniskem modifikovaná stříbrná tuhá amalgámová
elektroda
visící rtuťová kapková elektroda

Na úvod bych chtěla poděkovat své školitelce RNDr. Karolině Peckové, Ph.D. za odborné vedení, všestrannou pomoc a cenné připomínky k mé práci.

Dále bych chtěla poděkovat kolektivům laboratoří č. 110 a č. 113, své rodině, svým přátelům a svému příteli za jejich podporu a trpělivost.

Obsah

1. Úvod	- 9 -
1.1. Cíl práce.....	- 9 -
1.2. Studovaná látka	- 9 -
1.3. Analytické metody stanovení žlučových kyselin	- 12 -
1.4. Voltametrické metody	- 13 -
1.4.1. Diferenční pulsní voltametrie	- 13 -
1.4.2. Stacionární (DC) voltametrie	- 13 -
1.4.3. Cyklická voltametrie	- 13 -
1.5. Stacionární elektrody na bázi rtuťi	- 14 -
1.5.1. Rtuťovým meniskem modifikovaná stříbrná tuhá amalgámová elektroda.....	- 14 -
1.5.2. Visící rtuťová kapková elektroda	- 14 -
2. Experimentální část.....	- 15 -
2.1. Reagencie	- 15 -
2.2. Aparatura.....	- 15 -
2.3. Charakteristika použitých elektrod	- 16 -
2.3.1. Rtuťovým meniskem modifikovaná stříbrná tuhá amalgámová elektroda.....	- 16 -
2.3.2. Visící rtuťová kapková elektroda	- 16 -
2.4. Pracovní postupy	- 17 -
2.5. Vyhodnocení výsledků.....	- 17 -
3. Diskuze a výsledky.....	- 18 -
3.1. Studium chování chenodeoxycholové kyseliny na rtuťovým meniskem modifikované stříbrné tuhé amalgámové elektrodě	- 18 -
3.1.1. Diferenční pulsní voltametrie chenodeoxycholové kyseliny.....	- 18 -
3.1.2. Cyklická voltametrie chenodeoxycholové kyseliny	- 26 -
3.2. Studium chování chenodeoxycholové kyseliny na visící rtuťové kapkové elektrodě.....	- 34 -
3.2.1. DC voltametrie chenodeoxycholové kyseliny	- 34 -
3.2.3. Diferenční pulsní voltametrie chenodeoxycholové kyseliny.....	- 42 -
3.3. Cyklická voltametrie chenodeoxycholové kyseliny na visící rtuťové kapkové elektrodě	- 50 -
4. Závěr.....	- 57 -

Seznam použitých zkratk

BR pufr	Brittonův – Robinsonův tlumivý roztok
c	molární koncentrace (mol.l^{-1})
C.A.S.	Chemical Abstract Service
CDCA	chenodeoxycholová kyselina
CMC	kritická micelární koncentrace
CV	cyklická voltametrie
DCV	stacionární voltametrie (direct current voltammetry)
DPV	diferenční pulsní voltametrie
E	potenciál (mV)
E_{an}	anodický potenciál (mV)
ED	elektrochemická detekce
E_{fin}	konečný (negativnější) potenciál regenerace m-AgSAE
E_{in}	počáteční (pozitivnější) potenciál regenerace m-AgSAE
E_{kat}	katodický potenciál (mV)
E_{p}	potenciál píku (mV)
HMDE	visící rtuťová kapková elektroda
pH	záporný dekadický logaritmus aktivity oxoniových iontů
HPLC	vyskoúčinná kapalinová chromatografie
I	proud (nA)
I_{an}	anodický proud (nA)
I_{kat}	katodický proud (nA)
I_{p}	proud píku (nA)
LOD	mez detekce
LOQ	mez stanovitelnosti
m-AgSAE	rtuťovým meniskem modifikovaná stříbrná tuhá amalgámová elektroda
MS	hmotnostní detekce
pK_{a}	záporný dekadický logaritmus aciditní disociační konstanty

Tab. 1 Fyzikálně-chemické vlastnosti CDCA (hodnoty v tabulce byly měřeny za atmosferického tlaku a za standardních laboratorních podmínek). [2][3][4]

C.A.S. Name	Chenodeoxycholic acid
C.A.S. Number	474-25-9
Sumární vzorec	$C_{24}H_{40}O_4$
Molekulová hmotnost	$392,57 \text{ g.mol}^{-1}$
Rozpustnost ve vodě	$0,027 \text{ mmol.l}^{-1}$
Teplota tání	$165-167 \text{ }^{\circ}\text{C}$
pK_a	4,6
CMC*	9 mmol.l^{-1}

*kritická micelární koncentrace ve vodě při $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$

CDCA je látka patřící mezi žlučové kyseliny. Žlučové kyseliny jsou deriváty cholesterolu, z něhož jsou v játrech biosyntetizovány, poté se ukládají v žlučníku. Při průchodu potravy z žaludku do dvanáctníku jsou žlučovodem sekretovány do střeva, kde ve formě micel napomáhají emulgaci tukových kapének [5]. Struktura všech žlučových kyselin je tvořena steroidním jádrem a krátkým alifatickým postranním řetězcem. Steroidní jádro je tvořeno třemi šestičlennými kruhy a jedním pětičlenným kruhem [5]. Na uhlíku C_{10} a C_{13} je připojena methylová skupina. Jednotlivé kyseliny se pak liší počtem hydroxy skupin a především svým postranním řetězcem.

CDCA patří mezi C_{24} kyseliny, které se v živých organismech vyskytují ve formě konjugátů s glycinem a taurinem. Tato konjugace vede ke zvýšení její rozpustnosti ve fyziologickém prostředí [5].

Jde o nejvíce zastoupenou (45%) žlučovou kyselinu v lidské žluči [6]. V závislosti na struktuře kyseliny a hodnotě pH roztoku jsou žlučové kyseliny a jejich konjugáty v ionizované nebo protonizované formě. Zatímco pro nekonjugované kyseliny jsou hodnoty pK_a kolem $5,0 \pm 0,1$, jejich konjugace s glycinem vede k poklesu pK_a na hodnotu $3,9 \pm 0,1$. Konjugace s taurinem vede k podstatnému zvýšení acidity [6].

Žlučové kyseliny jsou zajímavé svou schopností tvořit supramolekuly. Anionty CDCA (stejně tak anionty ostatních žlučových kyselin) jsou povrchově aktivní molekuly díky amfipatickému charakteru jejich struktury. Tato struktura má hydrofobní část (β strana molekuly žlučové kyseliny) bez substituentů a hydrofilní část (α strana) substituovanou jednou až třemi hydroxyskupinami. Tyto anionty vytvářejí v poměrně úzkém koncentračním rozsahu micely; kritická micelární koncentrace CDCA je 9 mmol.l⁻¹ [6].

CDCA nachází uplatnění v medicíně. Ve směsi s cholovou kyselinou je podávána pacientům trpícím Zellwegerovým syndromem, který je spojen s defektem oxidace postranního řetězce, jež vede k akumulaci C₂₇ a C₂₉ žlučových kyselin [5].

Dříve byla používána jako látka rozpouštějící žlučové kameny, avšak poslední dobou je nahrazována kyselinou ursodeoxycholovou pro její nižší cytotoxicitu [5].

V sedmdesátých letech bylo prokázáno, že CDCA snižuje saturaci cholesterolu ve žluči a snižuje jeho schopnost absorpce [7].

Mnoho zdrojů poukazuje na chování žlučových kyselin jako na endogenní laxativa. Podání CDCA v závislosti na dávce vyvolává průjem, což může být využito při léčbě zácpy. Ve stolici malé skupiny dětí s funkční zácpou byla nalezena jako dominující žlučová kyselina 3-sulfát CDCA. Sulfonace CDCA vede ke zrušení její sekreční aktivity [7].

V portální žíle jsou žlučové kyseliny z části vázány na albumin, přičemž konjugáty CDCA jsou vázány nejpevněji. Při vzrůstu koncentrace vody a elektrolytů v tlustém střevě se CDCA chová jako osmosenzor stimulující jejich sekreci [7].

1.3. Analytické metody stanovení žlučových kyselin

Sledování hladin jednotlivých žlučových kyselin v tělních tekutinách vyžaduje citlivé a selektivní analytické metody.

Elektrochemické metody se téměř nepoužívají, výjimkou je metoda diferenční pulsní polarografie, která byla vyvinuta pro stanovení vybraných žlučových kyselin včetně CDCA ve farmaceutických produktech a žluči [8]. Často je využívána HPLC. Tato metoda je limitována citlivostí a specifitou detektorů. UV detekce není příliš citlivá díky slabé schopnosti žlučových kyselin absorbovat UV záření. Tento problém byl vyřešen využitím měkkých ionizačních technik, především ionizací elektrospejem, což umožnilo použití hmotnostního spektrometru jako detektoru. Proto je dnes k analýze žlučových kyselin nejčastěji využívána HPLC s hmotnostní detekcí [9].

K přímé analýze běžných žlučových kyselin byla vyvinuta metoda vysokoúčinné kapalinové chromatografie s UV detektorem sériově zapojeným s elektrochemickým detektorem. Ten se skládal z analytické cely obsahující dvě za sebou zapojené porézní coulometrické elektrody pracující při oxidačním napětí +0,60 V a +1,40 V. Další jednoelektrodová celda byla nastavena na +1,45 V a umístěna mezi pumpu a injektor, aby potlačila proudové pozadí. Eluce probíhala izokraticky v mobilní fázi obsahující methanol, acetonitril a 0,07 mol.l⁻¹ octan sodný, jehož pH bylo upraveno kyselinou fosforečnou na 5,0. Identita separovaných složek byla potvrzena pomocí standardů žlučových kyselin [10].

Analytické metody se také uplatňují při studiu vlastností žlučových kyselin. Ke studiu lipofilních vlastností byla použita HPLC na obrácených fázích, používající jako stacionární fázi C-18 a jako mobilní fázi 0,01 mol.l⁻¹ fosfátový pufr – methanol 70:130 (v/v) pH 7,0. Při tomto pH jsou konjugované i nekonjugované kyseliny přítomny v ionizované formě [11].

Metodou nukleární magnetické resonance využívající uhlík ¹³C byla studována schopnost ionizace chenodeoxycholové kyseliny a dalších žlučových kyselin v různých prostředích v přítomnosti dalších fyziologicky významných molekul. Uhlík ¹³C umožňuje studium ionizace karboxylových kyselin. Měří se chemický posun na ¹³C karboxylové skupiny v závislosti na pH [12].

1.4. Voltametrické metody

1.4.1. Direfenční pulsní voltametrie

Při metodě DPV se na potenciál, který se lineárně s časem mění, vkládá napěťový puls o amplitudě 10 až 100 nA a v době trvání řádově desítek milisekund [13]. Registruje se rozdíl proudů změřených těsně před vložením potenciálového pulzu a na jeho konci. Voltametrická křivka má tvar píku, přičemž poloha jeho vrcholu na potenciálové ose je blízká půlvlnovému potenciálu a výška je závislá na koncentraci analytu [14].

1.4.2. Stacionární (DC) voltametrie

Při této metodě se potenciál vkládaný na pracovní elektrodu lineárně s časem mění (roste či klesá). Rychlost změny potenciálu je dostatečně malá ve srovnání s rychlostí ustavování rovnováhy u elektrody, takže lze metodu považovat za stacionární při konstantním potenciálu. Přítomnost analytu se na polarizační křivce projeví voltametrickou vlnou [13].

1.4.3. Cyklická voltametrie

Cyklická voltametrie je metoda, při níž se na stacionární elektrodu v nemíchaném roztoku vkládá potenciál trojúhelníkového průběhu s rychlostí změny polarizace dE/dt . Polarizační křivky mají tvar píku, proud píku závisí na rychlosti časové změny potenciálu [13].

Přímé analytické využití metody je malé, hlavní význam má při studiu elektrodových reakcí. Z průběhu katodických a anodických křivek je možno usuzovat na mechanismus elektrodové reakce, např. posuzovat její reversibilitu. Pro reversibilní reakci platí (a) rozdíl potenciálů anodického a katodického píku $E_{p,a} - E_{p,k} = 0,059/n$, kde n je počet vyměněných elektronů a (b) podíl proudů anodického a katodického píku $I_{p,a}/I_{p,k} = 1$. U dějů kontrolovaných adsorpcí je výška píku přímo úměrná rychlosti polarizace, tj dE/dt [13]. U dějů kontrolovaných difúzí je výška píku přímo úměrná odmocnině z rychlosti polarizace.

1.5. Stacionární elektrody na bázi rtuti

1.5.1. Rtuťovým meniskem modifikovaná stříbrná tuhá amalgámová elektroda

Pevné amalgámové elektrody představují elektrochemicky nejpodobnější alternativu rtuťových elektrod díky srovnatelnému katodickému potenciálovému oknu a relativně vysoké citlivosti. Existují v několika variantách. Výhodou těchto elektrod je, že amalgámový materiál není toxický a jejich mechanická robustnost umožňuje použití v systémech s proudící kapalinou. Povrch amalgámových elektrod se v případě pasivace snadno elektrochemicky obnovuje. Jejich varianty, vlastnosti a možnosti použití byly nedávno shrnuty v přehledných referátech [15] [16].

1.5.2. Visící rtuťová kapková elektroda

HMDE je kapková, stacionární rtuťová mini elektroda s povrchem v řádech milimetrů. Rtuťová kapka se vytváří na konci skleněné kapiláry. Různé konstrukční varianty umožňují nastavení její velikosti pomocí mikrometrového šroubu [17] či otevřením ventilu, který uzavírá vstup do kapiláry ze zásobníku se rtutí [18].

2. Experimentální část

2.1. Reagencie

Studovaná látka: chenodeoxycholová kyselina (>99%, Sigma-Aldrich, Praha, ČR). Zásobní roztok CDCA byl připraven o koncentraci $1 \cdot 10^{-2} \text{ mol.l}^{-1}$ navážením 0,09814 g CDCA a rozpuštěním ve 25 ml methanolu ($\geq 99,9\%$, Merck, Germany). Následně byl uchováván v lednici.

Pro přípravu kyselé složky BR pufru byla použita čistá kyselina octová (Lachema, Brno, ČR), 85% kyselina fosforečná (Lachema, Brno, ČR) a kyselina boritá (čistota p.a., Penta, Chrudim, ČR), všechny o koncentraci $0,04 \text{ mol.l}^{-1}$. Pro přípravu zásadité složky byl použit $0,2 \text{ mol.l}^{-1}$ hydroxid sodný (čistota p.a., Penta, Chrudim, ČR).

Pro přípravu $0,04 \text{ mol.l}^{-1}$ borátového pufru byla použita kyselina boritá (čistota p.a., Penta, Chrudim, ČR) a tetraboritan disodný dekahydrát (čistota p.a., Lachema, Brno, ČR).

2.2. Aparatura

Pro všechna voltametrická stanovení byl použit osobním počítačem ovládaný voltametrický analyzátor Eco-Tribo polarograf pracující se softwarem Polar Pro verze 5.1 (Polaro-Sensors, Praha, ČR). Software pracoval v operačním systému Microsoft Windows XP.

Jednotlivá měření byla prováděna v tříelektrodovém zapojení s referenční argentchloridovou elektrodou ($3 \text{ mol.l}^{-1} \text{ KCl}$) a pomocnou platinovou drátkovou elektrodou. Jako pracovní elektroda byla použita rtuťovým meniskem modifikovaná stříbrná tuhá amalgámová elektroda (výrobní číslo 2-05-55, průměr menisku 0,5 mm) a visící rtuťová kapková elektroda.

K přípravě pufrů byla použita deionizovaná voda (Milli-Q_{plus} sytem, Millipore, Billerica, MA, USA), hodnota pH byla měřena pH-metrem Jenway 4330 (Jenway, Staffordshire, UK).

2.3. Charakteristika použitých elektrod

2.3.1. Rtuťovým meniskem modifikovaná stříbrná tuhá amalgámová elektroda

Při vypracování této práce byla použita komerčně dodávaná m-AgSAE č. 2-05-55, průměr menisku 0,5 mm (EcoTrend Plus, Praha, ČR).

Na začátku každého dne byla elektroda aktivována v roztoku $0,2 \text{ mol.l}^{-1}$ chloridu draselného při vloženém potenciálu -2200 mV po dobu 300 sekund za současného míchání roztoku. Amalgamace elektrody ponořením do kapalné rtuti na 10 sekund se prováděla po delším přerušení práce a v případě odtržení menisku.

2.3.2. Visící rtuťová kapková elektroda

Pro měření byla použita tužková visící rtuťová kapková minielektroda typu UM μ E (Polaro-Sensors, Praha, ČR). Pro výpočet plochy kapky se postupovalo následujícím způsobem: do zvážené polarografické nádoby s roztokem $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ chloridu draselného s trochou rtuti bylo nakapáno 30 kapek rtuti a byla vypočtena hmotnost jedné kapky $m = 1,407 \cdot 10^{-3} \text{ g}$ a z ní vypočítaná plocha kapky $= 0,0107 \text{ cm}^2$ za předpokladu, že kapka má tvar ideální koule.

2.4. Pracovní postupy

Analyzovaný roztok CDCA o koncentraci $5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ byl připraven z $1 \cdot 10^{-2} \text{ mol.l}^{-1}$ zásobního roztoku následujícím způsobem: do odměrné baňky o objemu 10 ml bylo automatickou pipetou napipetováno 500 μl $1 \cdot 10^{-2} \text{ mol.l}^{-1}$ CDCA, 500 μl methanolu a baňka byla doplněna po rysku pufrem. Při měření kalibračních závislostí byl příslušný objem $1 \cdot 10^{-2} \text{ mol.l}^{-1}$ CDCA připipetováván přímo do analyzovaného roztoku a výsledná koncentrace pak byla spočítána. Všechny analyzované roztoky byly před začátkem měření probublány dusíkem po dobu 5 minut, aby se odstranil kyslík. Bublafka byla naplněna roztokem deionizovaná voda – methanol v poměru 9:1, dusík byl skrz tento roztok po celou dobu měření přiváděn nad analyzovaný roztok.

Při použití m-AgSAE bylo před každým měřením na elektrodu vkládáno 100 pulzů po dobu 20 s. Potenciály E_{in} a E_{fin} byly optimalizovány a nacházely se po okrajích potenciálového okna; jejich hodnoty jsou uvedeny v **tab. 2**. Celková doba této aktivace, při které byl roztok míchán, byla 25 s. Šířka pulzu byla 80 ms, výška pulzu -50 mV a rychlost polarizace 20 mV.s^{-1} .

U HMDE byla rychlost nástupu potenciálu nastavena u metody DPV na 20 mV.s^{-1} a u metody DCV na 50 mV.s^{-1} . Výška pulzu byla nastavena na -50 mV a šířka pulzu na 80 ms.

2.5. Vyhodnocení výsledků

K vyhodnocení všech naměřených křivek byl použit program Polar Pro 5.1. Pro všechny vyhodnocené křivky byla použita metoda prodloužení základní linie před nástupem píku a odečet velikosti proudu píku jako rozdílu mezi proudem odečteným v proudovém maximu píku a proudem odečteném na prodloužení základní linie při potenciálu odpovídajícím potenciálu píku.

Grafy byly tvořeny v program OriginPro 8 (OriginLab Corporation, USA). Tabulky a výpočty byly tvořeny v programu Microsoft Excel 2010 (Microsoft, USA). Hodnoty LOD byly vypočítány jako trojnásobek a hodnoty LOQ jako desetinásobek směrodatné odchylky velikosti proudu pro nejnižší naměřenou koncentraci vydělené směrnici příslušné lineární závislosti na intervalu pravděpodobnosti $\alpha \pm 0,05$.

3. Diskuze a výsledky

3.1. Studium chování chenodeoxycholové kyseliny na rtuťovým meniskem modifikované stříbrné tuhé amalgámové elektrodě

3.1.1. Diferenční pulsní voltametrie chenodeoxycholové kyseliny

3.1.1.1 Vliv pH prostředí na chování CDCA

Ke studiu chování CDCA o koncentraci $5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ byla použita metoda DPV na m-AgSAE v prostředí BR pufr – methanol (9:1). Toto směsné prostředí bylo použito vzhledem k omezené rozpustnosti CDCA ve vodě. Ke studiu byly využity BR pufrы o pH 12,0, 10,0, 8,0, 6,0 a 4,0. V **tab. 2** jsou zaznamenány hodnoty regeneračních potenciálů E_{in} a E_{fin} , velikost potenciálového okna na katodické straně E_{kat} a velikosti potenciálu píku E_p a proudu píku I_p .

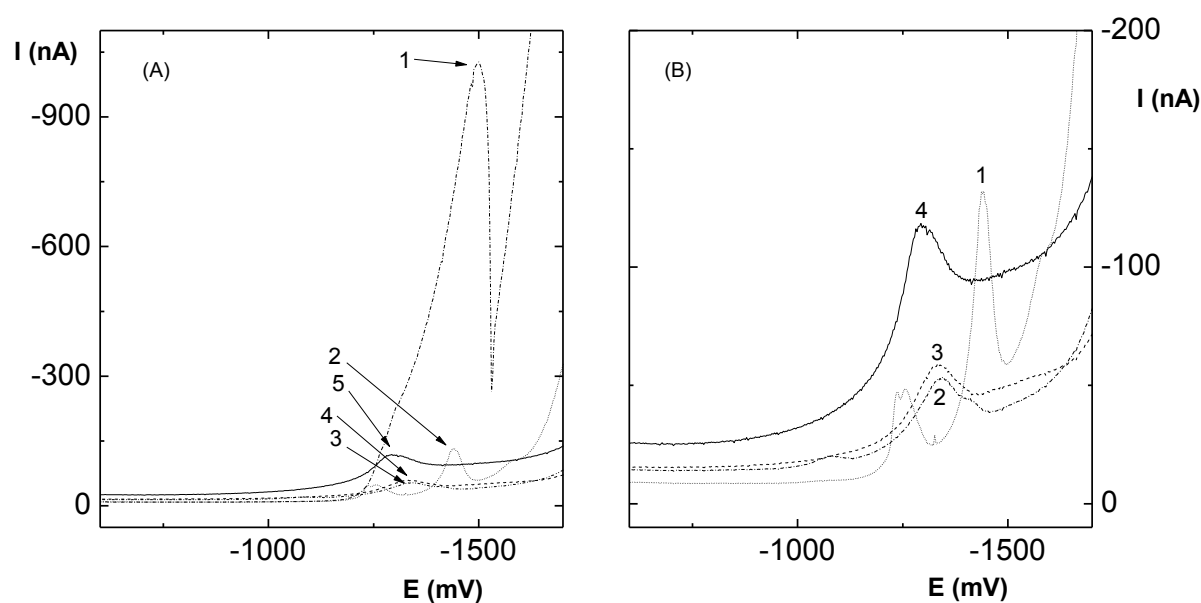
Z **tab. 2** je zřejmé, že využitelný potenciálový rozsah se na katodické straně při vzrůstu pH posouvá do oblasti zápornějších potenciálů, protože dochází ke snížení koncentrace oxoniových iontů v roztoku, které ovlivňují rozsah potenciálového okna.

Voltamogramy CDCA příslušející daným pH jsou zaznamenány na **obr. 2**. Závislosti velikosti potenciálu píku E_p na pH jsou zaznamenány na **obr. 3** a proudu píku I_p na **obr. 4**.

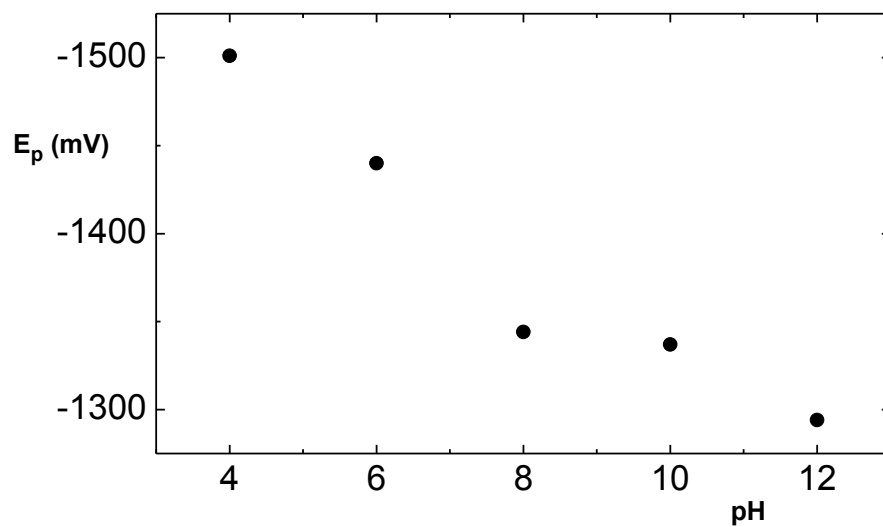
Z grafu na **obr. 3** je vidět, že v rozmezí pH 12,0 – 8,0 dochází k mírnému posunu píku do oblasti zápornějších potenciálů. Dochází také ke snížení proudu píku. Od pH 6,0 lze pozorovat změnu v chování, která je zřetelně patrná na **obr. 2(A)** u pH 4,0, kdy dochází k výraznému posunu píku do oblasti zápornějších potenciálů a velikost proudu tohoto píku je několikanásobně (cca 10x) větší v porovnání s ostatními křivkami na obrázku. Tato změna zřejmě souvisí s protonizací skupiny COO^- na C_{24} CDCA, jejíž pK_a je 4,6. Při pH nižším než pK_a dané kyseliny dochází k protonizaci karboxylové skupiny a snižuje se rozpustnost látky ve vodě. Roztok CDCA o koncentraci $5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ se při použití BR pufru o pH 4,0 částečně vysrážel, nicméně dalšími experimenty bylo potvrzeno, že pík u potenciálu -1501 mV souvisí s redukcí CDCA.

Tab. 2 Potenciály okraje na katodické straně E_{kat} pro -100 nA, regenerační potenciály E_{in} , E_{fin} a velikosti potenciálu píku E_p a proudu píku I_p měřené metodou DPV na m-AgSAE v roztoku CDCA o koncentraci $c = 5 \cdot 10^{-4}$ mol.l $^{-1}$ v prostředí BR pufr – methanol (9:1).

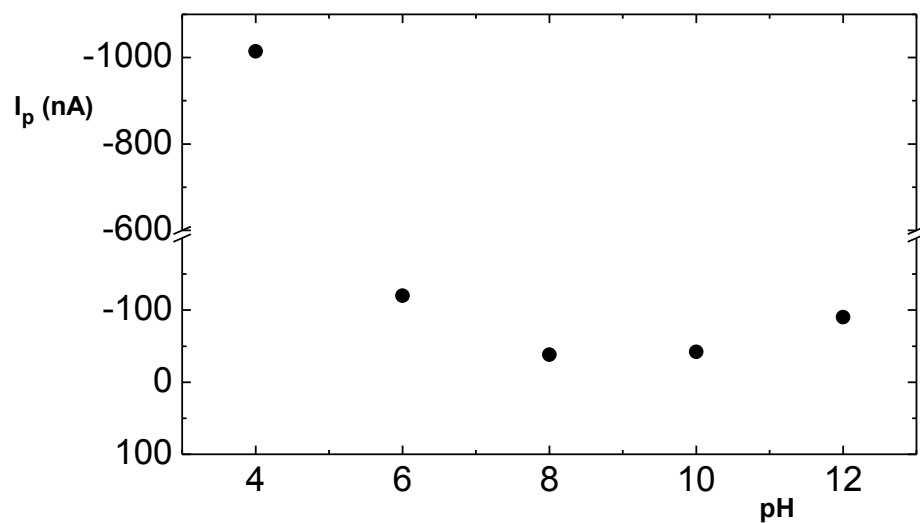
pH	E_{in} (mV)	E_{fin} (mV)	E_p (mV)	I_p (nA)	E_{kat} (mV)
4,0	50	-1700	-1501	-1014,5	-1581
6,0	0	-1700	-1440	-120,1	-1578
8,0	0	-1750	-1344	-38,3	-1645
10,0	-100	-1800	-1337	-41,9	-1726
12,0	-100	-1800	-1294	-90,3	-1750



Obr. 2 Voltamogramy CDCA ($c = 5 \cdot 10^{-4}$ mol.l $^{-1}$) měřené metodou DPV na m-AgSAE v prostředí BR pufr – methanol (9:1). pH BR pufru: (A) 4,0 (1), 6,0 (2), 8,0 (3), 10,0 (4), 12,0 (5), (B) výřez z obrázku (A), pH BR pufru: 6,0 (1), 8,0 (2), 10,0 (3), 12,0 (4).



Obr. 3 Závislost potenciálu píku E_p CDCA ($c = 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) na pH BR pufru měřená metodou DPV na m-AgSAE v prostředí BR pufr – methanol (9:1).



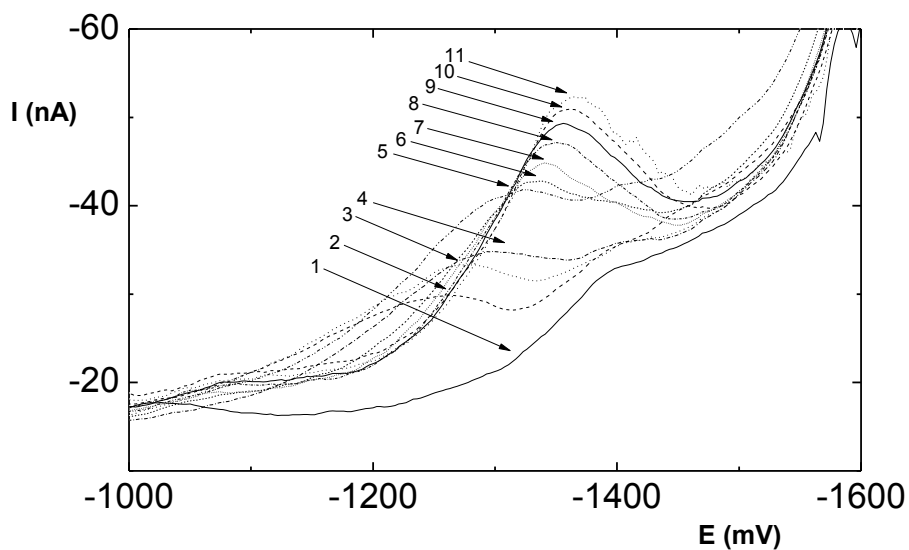
Obr. 4 Závislost proudu píku I_p CDCA ($c = 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) na pH BR pufru měřená metodou DPV na m-AgSAE v prostředí BR pufr – methanol (9:1).

3.1.1.2 Koncentrační závislost CDCA

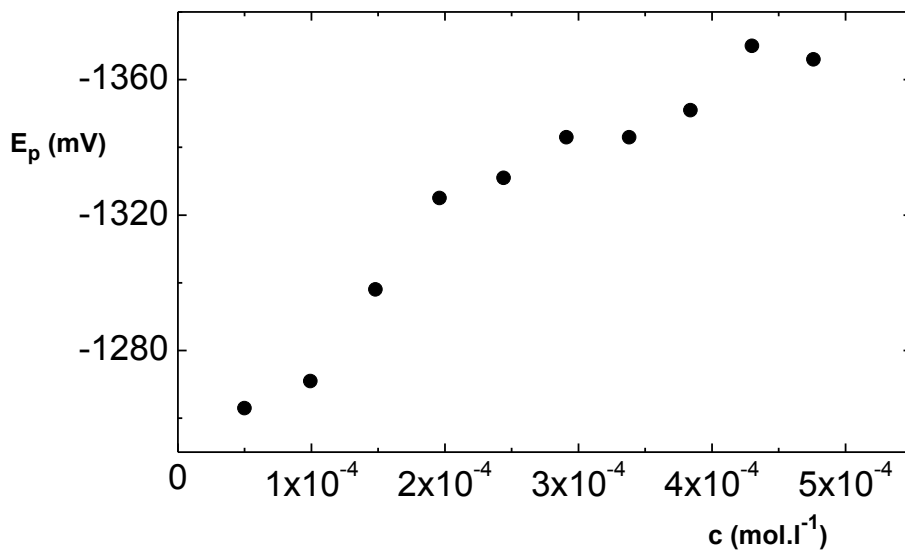
Koncentrační závislost byla měřena v prostředí 0,04 mol.l⁻¹ borátový pufr (pH 9,1) – methanol (9:1) a v prostředí BR pufr (pH 4,0) – methanol (9:1).

V pH 9,1 byla koncentrační závislost CDCA měřena v rozmezí koncentrací 5.10⁻⁵ – 4,76.10⁻⁴ mol.l⁻¹. Příslušné voltamogramy jsou na **obr. 5**. Z **obr. 6** je vidět, že se zvyšující se koncentrací CDCA dochází k posunu potenciálu píků do oblasti zápornějších potenciálů. Tato závislost je zobrazena na **obr. 6**. Graf kalibrační závislosti velikosti proudu píků na koncentraci CDCA je na **obr. 7**. Tato závislost má sigmoidální průběh s lineárním úsekem mezi koncentracemi 1,48.10⁻⁴ – 2,91.10⁻⁴ mol.l⁻¹, což naznačuje, že se látka adsorbovala na povrch elektrody. Parametry lineární závislosti jsou v **tab. 3**. Hodnoty LOD a LOQ byly vypočítány ze čtyř po sobě jdoucích měření pro nejnižší změřenou koncentraci.

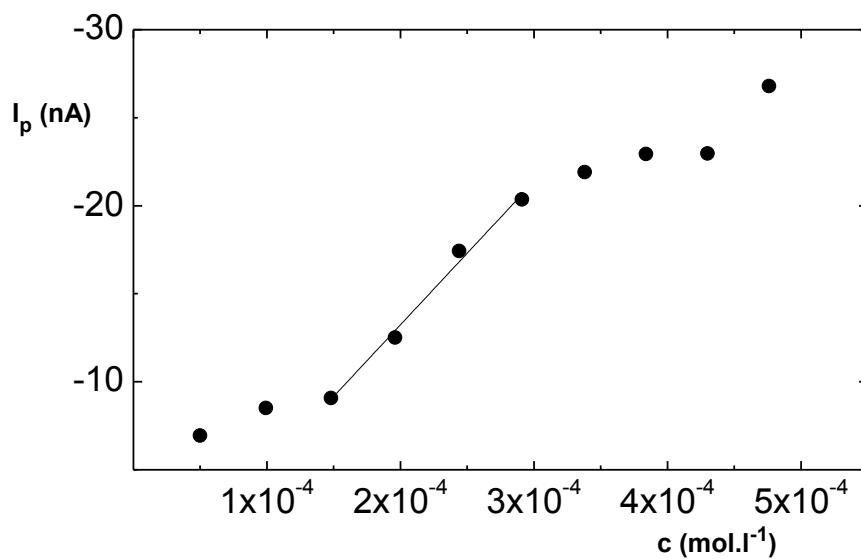
V pH 4,0 byla koncentrační závislost CDCA měřena v rozmezí koncentrací 1.10⁻⁵ – 4,81.10⁻⁴ mol.l⁻¹, viz voltamogramy na **obr. 8**. V tomto prostředí došlo k viditelnému vysrážení CDCA z roztoku od koncentrace 1,99.10⁻⁴ mol.l⁻¹. V rozmezí koncentrací 1.10⁻⁵ – 1,02.10⁻⁴ mol.l⁻¹ byl roztok čirý. Graf závislosti potenciálu píků na koncentraci je na **obr. 9**. S rostoucí koncentrací se posouvá potenciál píků do zápornější oblasti, což může souviset s adsorpcí látky na povrch elektrody. Od koncentrace 1,02.10⁻⁴ mol.l⁻¹, tedy od srážení roztoku CDCA, nedochází k výraznému posunu potenciálu píků. Koncentrační závislost velikosti proudu píků I_p je lineární do koncentrace 1,99.10⁻⁴ mol.l⁻¹ (viz parametry v **tab. 4**), nicméně i při vyšších koncentracích dochází s rostoucí koncentrací k růstu proudu píků, jak je vidno z **obr. 7** i z naměřených voltamogramů na **obr. 8**. Hodnoty LOD a LOQ byly vypočítány z deseti po sobě jdoucích měření nejnižší naměřené koncentrace.



Obr. 5 Voltamogramy CDCA měřené metodou DPV na m-AgSAE v prostředí 0,04 mol.l⁻¹ borátový pufr (pH 9,1) – methanol (9:1) o koncentracích: základní elektrolyt (1), 5.10⁻⁵ mol.l⁻¹ (2), 9,93.10⁻⁵ mol.l⁻¹ (3), 1,48.10⁻⁴ mol.l⁻¹ (4), 1,96.10⁻⁴ mol.l⁻¹ (5), 2,44.10⁻⁴ mol.l⁻¹ (6), 2,91.10⁻⁴ mol.l⁻¹ (7), 3,38.10⁻⁴ mol.l⁻¹ (8), 3,84.10⁻⁴ mol.l⁻¹ (9), 4,30.10⁻⁴ mol.l⁻¹ (10), 4,76.10⁻⁴ mol.l⁻¹ (11).



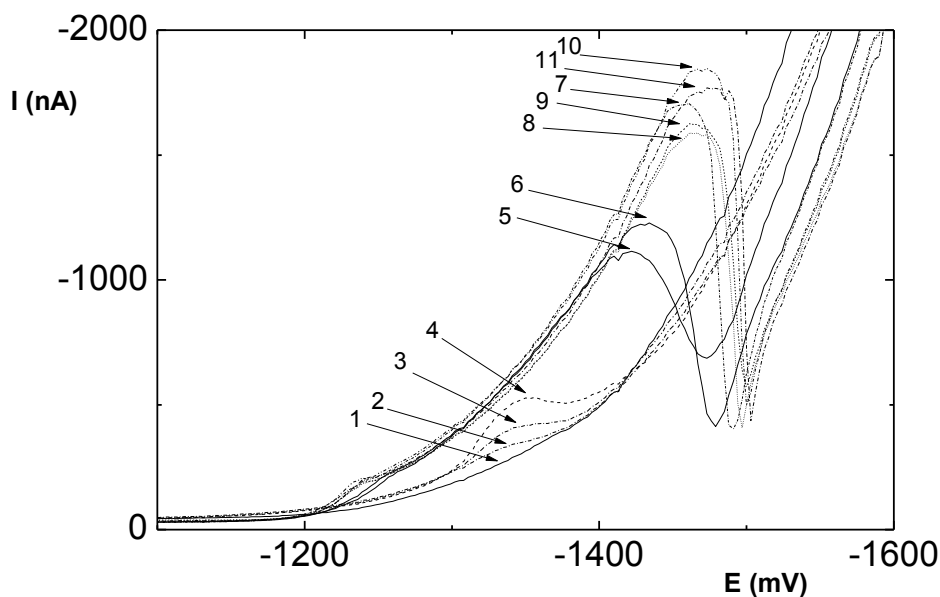
Obr. 6 Závislost potenciálu píku E_p na koncentraci CDCA v rozmezí $c = 5.10^{-5} - 4,76.10^{-4}$ mol.l⁻¹ měřená metodou DPV na m-AgSAE v prostředí 0,04 mol.l⁻¹ borátový pufr (pH 9,1) – methanol (9:1).



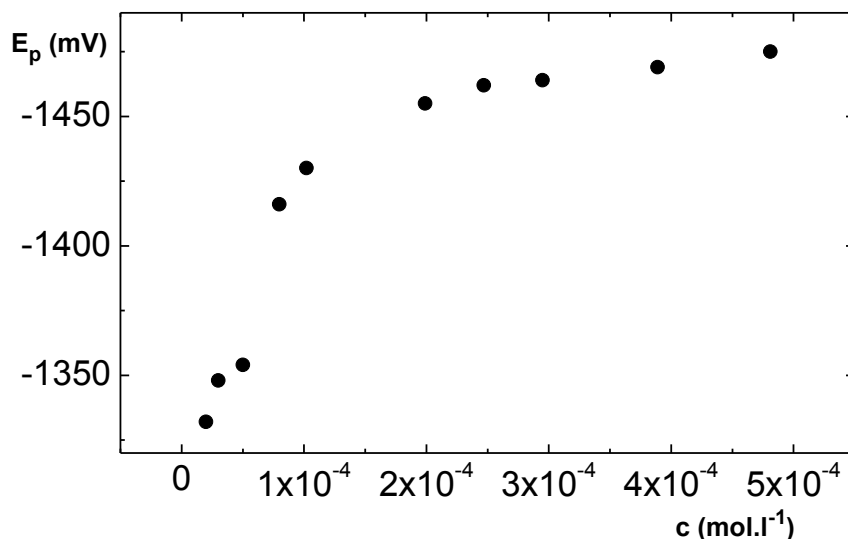
Obr. 7 Závislost proudu píku I_p na koncentraci CDCA v rozmezí $c = 5 \cdot 10^{-5} - 4,76 \cdot 10^{-4}$ mol.l⁻¹ měřená metodou DPV na m-AgSAE v prostředí 0,04 mol.l⁻¹ borátový pufr (pH 9,1) – methanol (9:1).

Tab. 3 Parametry kalibrační přímky pro stanovení CDCA metodou DPV na m-AgSAE v prostředí 0,04 mol.l⁻¹ borátový pufr (pH 9,1) – methanol (9:1).

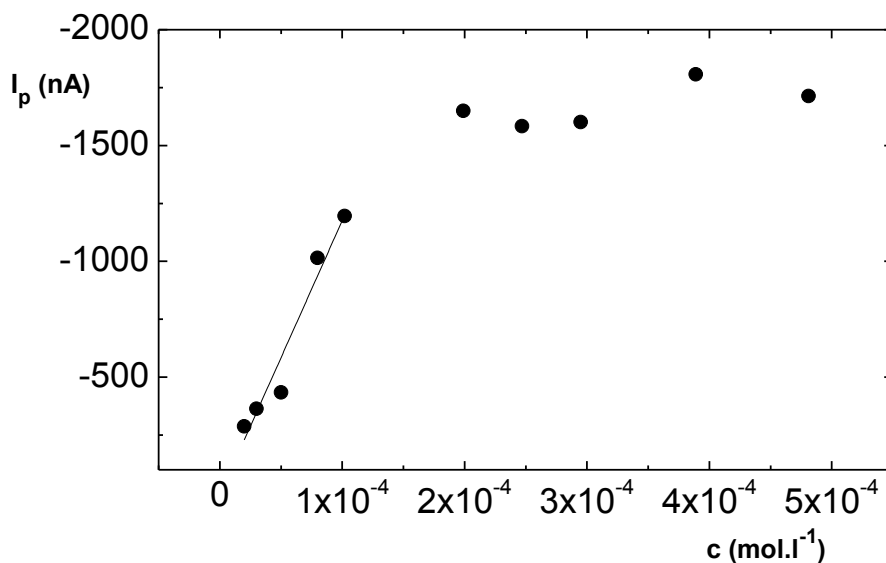
c (mol.l ⁻¹)	směrnice (nA.mol ⁻¹ .l)	úsek (nA)	korelační koeficient	LOD (mol.l ⁻¹)	LOQ (mol.l ⁻¹)
$(1,48 - 2,91) \cdot 10^{-4}$	-81300,0	3,0	0,9878	$4,12 \cdot 10^{-5}$	$1,37 \cdot 10^{-4}$



Obr. 8 Voltamogramy CDCA měřené metodou DPV na m-AgSAE v prostředí BR pufr (pH 4,0) – methanol (9:1) o koncentracích: základní elektrolyt (1), $2 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$ (2), $2,99 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$ (3), $5 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$ (4), $7,98 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$ (5), $1,02 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ (6), $1,99 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ (7), $2,47 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ (8), $2,95 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ (9), $3,89 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ (10), $4,81 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ (11).



Obr. 9 Závislost potenciálu píku E_p na koncentraci CDCA v rozmezí $c = 2 \cdot 10^{-5} - 4,81 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ měřená metodou DPV na m-AgSAE v prostředí BR pufr (pH 4,0) – methanol (9:1).



Obr. 10 Závislost proudu píku I_p na koncentraci CDCA v rozmezí $c = 2.10^{-5} - 4,81.10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ měřená metodou DPV na m-AgSAE v prostředí BR pufr (pH 4,0) – methanol (9:1).

Tab. 4 Parametry kalibrační přímky pro stanovení CDCA metodou DPV na m-AgSAE v prostředí BR pufr (pH 4,0) – methanol (9:1).

$c \text{ (mol.l}^{-1}\text{)}$	směrnice ($\text{nA.mol}^{-1}.\text{l}$)	úsek (nA)	korelační koeficient	LOD (mol.l^{-1})	LOQ (mol.l^{-1})
$2.10^{-5} - 1,02.10^{-4}$	$-1,18.10^7$	8,0	0,9375	$4,71.10^{-6}$	$1,57.10^{-5}$

3.1.2. Cyklická voltametrie chenodeoxycholové kyseliny

Cyklická voltametrie CDCA byla měřena v prostředí 0,04 mol.l⁻¹ borátový pufr (pH 9,1) – methanol (9:1) a v prostředí BR pufr (4,0) – methanol (9:1) o koncentraci CDCA $c = 5 \cdot 10^{-4}$ mol.l⁻¹ ..

Pro pH 9,1 je z **tab. 5** vidět, že rozdíl potenciálů katodického a anodického píku ΔE_p pro nižší rychlosti polarizace 20 – 320 mV.s⁻¹ dosahuje hodnot 27 – 44 mV a výrazně se zvyšuje až při rychlostech polarizace 640 – 2560 mV.s⁻¹. Poměry I_k/I_a jsou vyšší než jedna. Jde tedy o quasireversibilní děj. Příslušné cyklické voltamogramy v rozsahu rychlostí polarizace 20 – 2560 mV.s⁻¹ jsou na **obr. 11**.

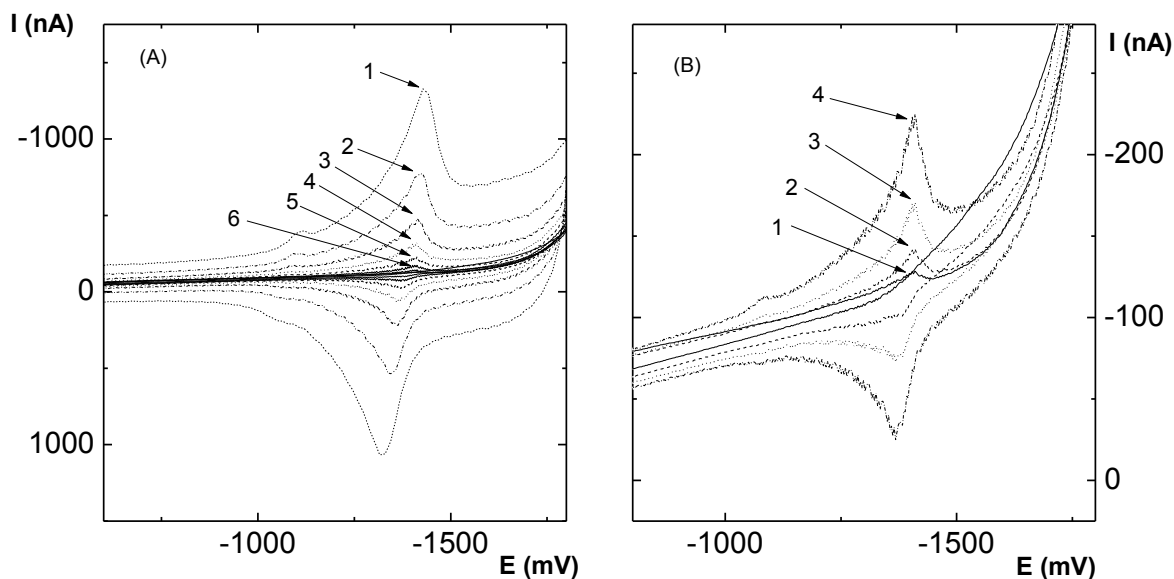
Graf závislosti velikosti potenciálu píku na rychlosti polarizace je na **obr. 12**. Se zvyšující se rychlostí polarizace potenciál píku roste, parametry lineární závislosti jsou v **tab. 6**. Z grafu na **obr. 13** je patrné, že s rostoucí rychlostí polarizace roste výška píku lineárně v katodické i anodické oblasti, parametry lineární závislosti jsou uvedeny v **tab. 6**. Jde tedy o děj kontrolovaný adsorpcí, čemuž napovídá i ostrý tvar píku. Při opakování cyklů nedocházelo ke vzniku dalších píků či k výrazné změně proudu a potenciálu píku.

Naměřené cyklické voltamogramy pro CDCA v prostředí BR pufr (4,0) – methanol (9:1) jsou na **obr. 14**, hodnoty E_k , E_a , jejich rozdíl ΔE_p a hodnoty I_k a I_a jsou uvedeny v **tab. 7**. Voltamogramy opět vykazují katodický pík a anodický protipík, který je ovšem v rozmezí rychlostí polarizace 20 – 320 mV.s⁻¹ netypicky otočen do katodické oblasti. Při vyšších rychlostech polarizace jsou píky otočeny klasicky do anodické oblasti. Potenciál píku se na katodické straně posouvá do záporné oblasti potenciálů, viz **obr. 15**. Závislost velikosti proudu píku na odmocnině rychlosti polarizace je na **obr. 16**. Pro nižší rychlosti je tato závislost lineární pro katodický i anodický proud, jde tedy o děj řízený difúzí. Parametry této lineární závislosti jsou v **tab. 8**.

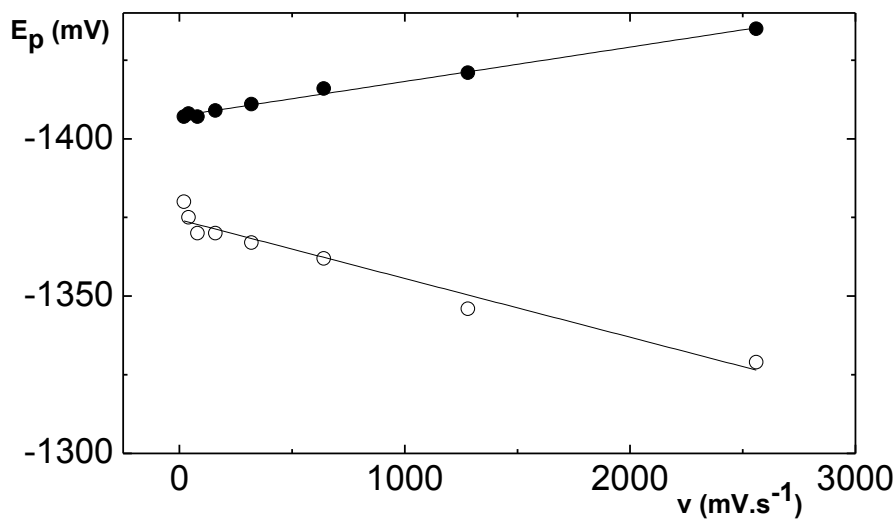
Pro koncentraci CDCA $c = 2,5 \cdot 10^{-4}$ mol.l⁻¹, kdy je na voltamogramech zřejmý atypický protipík směřující do katodické oblasti, bylo provedeno měření 10ti cyklických voltamogramů rychlostí polarizace 100 mV.s⁻¹. U prvního a druhého cyklu je viditelný mírný nárůst proudu píku, od třetího cyklu je proud píku konstantní, viz **obr. 17**.

Tab. 5 Katodický a anodický potenciál píku E_k , E_a a jejich rozdíl ΔE_p a poměr I_k/I_a pro CDCA ($c = 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$). Měřeno na m-AgSAE metodou CV v rozmezí rychlostí polarizace 20 – 2560 mV.s^{-1} v prostředí 0,04 mol.l^{-1} borátový pufr (pH 9,1) – methanol (9:1).

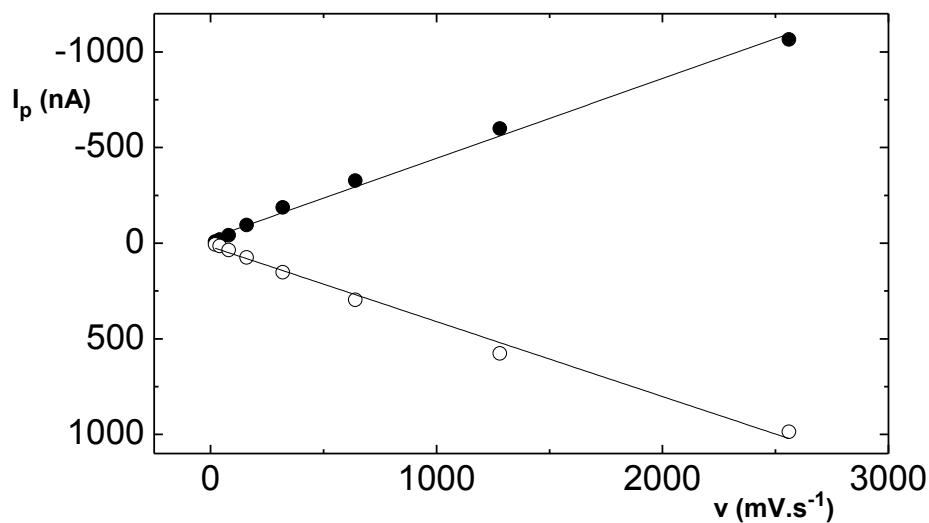
$v (\text{mV.s}^{-1})$	$E_k (\text{mV})$	$E_a (\text{mV})$	ΔE_p	I_k / I_a
20	-1407	-1380	27	1,19
40	-1408	-1375	33	1,25
80	-1407	-1370	37	1,15
160	-1409	-1370	39	1,27
320	-1411	-1367	44	1,23
640	-1416	-1362	54	1,10
1280	-1421	-1346	75	1,04
2560	-1435	-1329	106	1,08



Obr. 11 Cyklické voltamogramy CDCA ($c = 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) měřené na m-AgSAE v prostředí $0,04 \text{ mol.l}^{-1}$ borátový pufr (pH 9,1) – methanol (9:1). Rychlosti polarizace: (A) 2560 mV.s^{-1} (1), 1280 mV.s^{-1} (2), 640 mV.s^{-1} (3), 320 mV.s^{-1} (4), 160 mV.s^{-1} (5), 80 mV.s^{-1} (6), (B) výřez z obr (A): 20 mV.s^{-1} (1), 40 mV.s^{-1} (2), 80 mV.s^{-1} (3), 160 mV.s^{-1} (4).



Obr. 12 Závislost katodického (●) a anodického (○) potenciálu píku E_p CDCA ($c = 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) na rychlosti polarizace v rozmezí $20 - 2560 \text{ mV.s}^{-1}$. Měřeno metodou CV na m-AgSAE v prostředí $0,04 \text{ mol.l}^{-1}$ borátový pufr (pH 9,1) – methanol (9:1).



Obr. 13 Závislost velikosti katodického (●) a anodického (○) proudu píku I_p CDCA ($c = 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) na rychlosti polarizace v v rozmezí 20 – 2560 mV.s^{-1} . Měřeno metodou CV na m-AgSAE v prostředí 0,04 mol.l^{-1} borátový pufr (pH 9,1) – methanol (9:1).

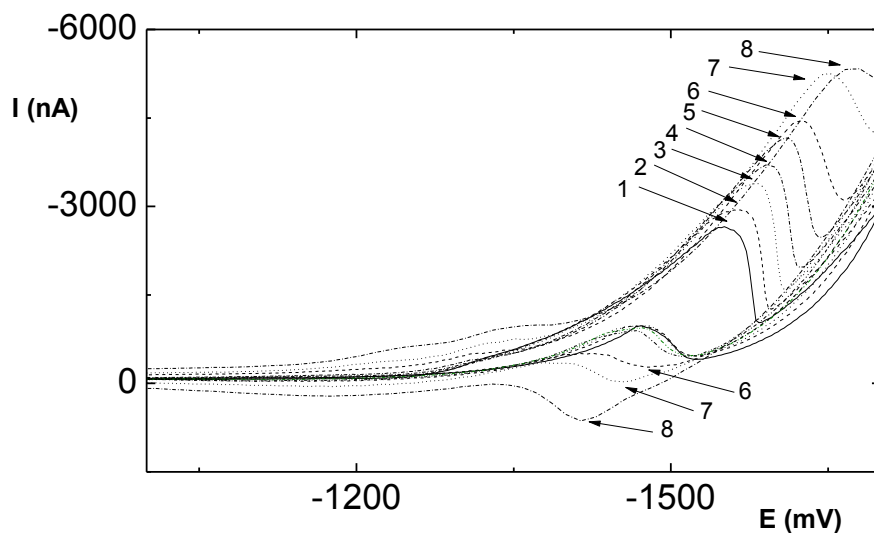
Tab. 6 Parametry lineární závislosti katodického a anodického proudu píku I_p a potenciálu píku E_p pro CDCA ($c = 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$). Měřeno metodou CV na m-AgSAE v prostředí 0,04 mol.l^{-1} borátový pufr (pH 9,1) – methanol (9:1).

	signál	směrnice ($\text{nA.mV}^{-1}.\text{s}$)	úsek (nA)	korelační koeficient
pík	katodický	-0,4172	-26,7	0,9931
	anodický	0,3919	18,3	0,9916
potenciál	katodický	-0,0109	-1407,3	0,9915
	anodický	0,0187	-1374,3	0,9554

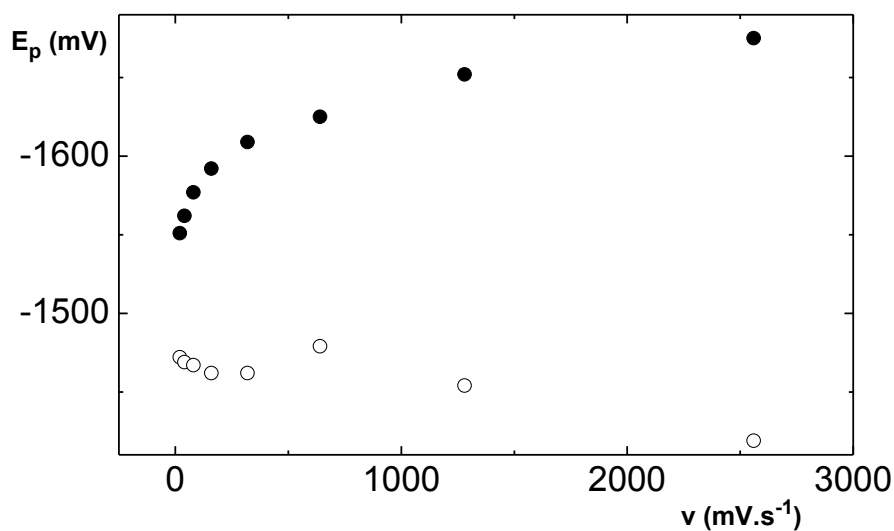
Tab. 7 Katodický a anodický potenciál píku E_k , E_a a jejich rozdíl ΔE_p a katodický a anodický proud píku I_k a I_a pro CDCA ($c = 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$). Měřeno na m-AgSAE

metodou CV v rozmezí rychlostí polarizace 20 – 2560 mV.s^{-1} v prostředí BR pufr (pH 4,0) – methanol (9:1).

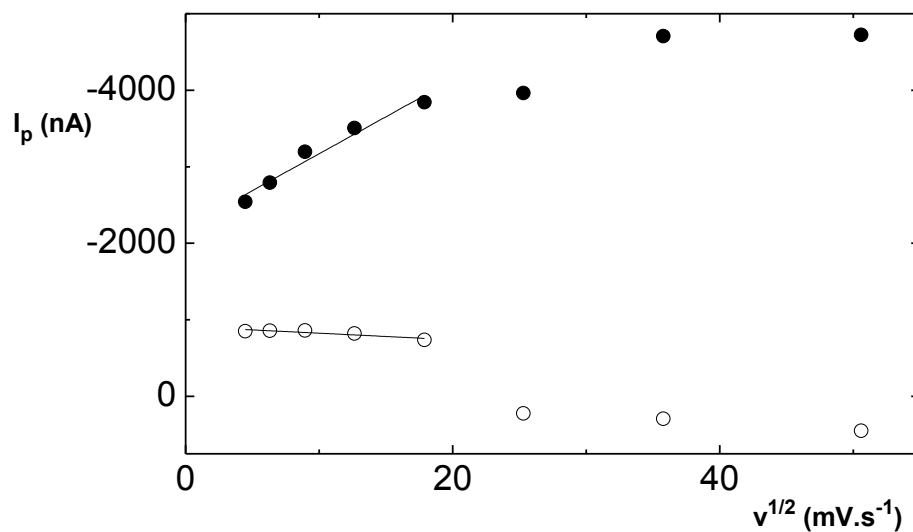
ν (mV.s^{-1})	E_k (mV)	E_a (mV)	ΔE_p	I_k (nA)	I_a (nA)
20	-1551	-1472	79	-2540,7	-850,1
40	-1562	-1469	93	-2791,7	-856,1
80	-1577	-1467	110	-3194,0	-859,5
160	-1592	-1462	130	-3506,3	-821,4
320	-1609	-1462	147	-3844,3	-738,6
640	-1625	-1479	206	-3962,7	222,0
1280	-1652	-1454	261	-4708,0	292,0
2560	-1675	-1419	258	-4724,0	450,6



Obr. 14 Cyklické voltamogramy CDCA o koncentraci $c = 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ měřené na m-AgSAE v prostředí BR pufr (pH 4,0) – methanol (9:1) rychlostí polarizace 20 mV.s^{-1} (1), 40 mV.s^{-1} (2), 80 mV.s^{-1} (3), 160 mV.s^{-1} (4), 320 mV.s^{-1} (5), 640 mV.s^{-1} (6), 1280 mV.s^{-1} (7), 2560 mV.s^{-1} (8).



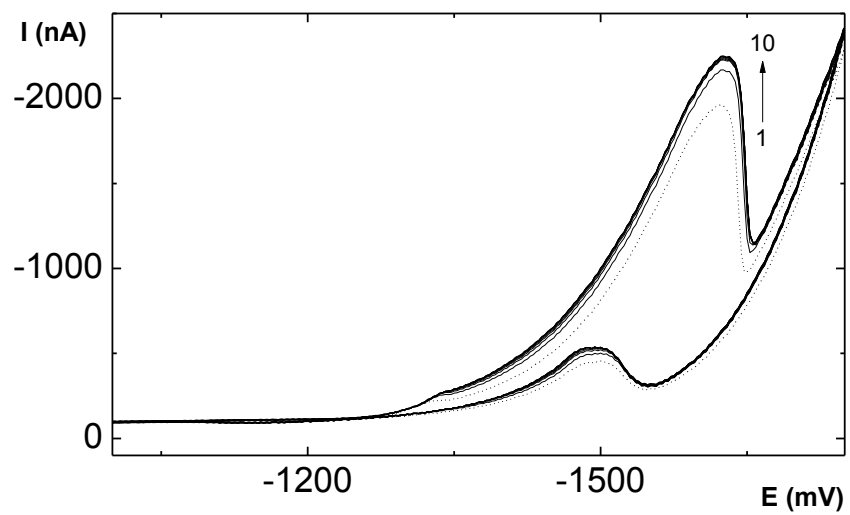
Obr. 15 Závislost katodického (●) a anodického (○) potenciálu píku E_p CDCA o koncentraci $c = 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ na rychlosti polarizace v rozmezí $20 - 2560 \text{ mV.s}^{-1}$. Měřeno metodou CV na m-AgSAE v prostředí BR pufr (pH 4,0) – methanol (9:1).



Obr. 16 Závislost katodického (●) a anodického (○) proudu píku I_p CDCA o koncentraci $c = 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ na odmocnině rychlosti polarizace v rozmezí 20 – 2560 mV.s^{-1} . Měřeno metodou CV na m-AgSAE v prostředí BR pufr (pH 4,0) – methanol (9:1).

Tab. 8 Parametry lineární závislosti katodického a anodického proudu píku I_p pro CDCA ($c = 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) v rozsahu rychlostí polaritace 20 – 320 mV.s^{-1} . Měřeno metodou CV na m-AgSAE v prostředí BR pufr (pH 4,0) – methanol (9:1).

		signál	směrnice (nA.mV ⁻¹ .s)	úsek (nA)	korelační koeficient
pík	katodický		-96,6	-2204,6	0,9522
	anodický		8,6	-911,3	0,7585



Obr. 17 Cyklické voltamogramy CDCA ($c = 2,5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$), rychlost polarizace 100 mV.s^{-1} . Měřeno na m-AgSAE v prostředí BR pufr (pH 4,0) – methanol (9:1), 10 cyklů.

3.2. Studium chování chenodeoxycholové kyseliny na visící rtuťové kapkové elektrodě

3.2.1. DC voltametrie chenodeoxycholové kyseliny

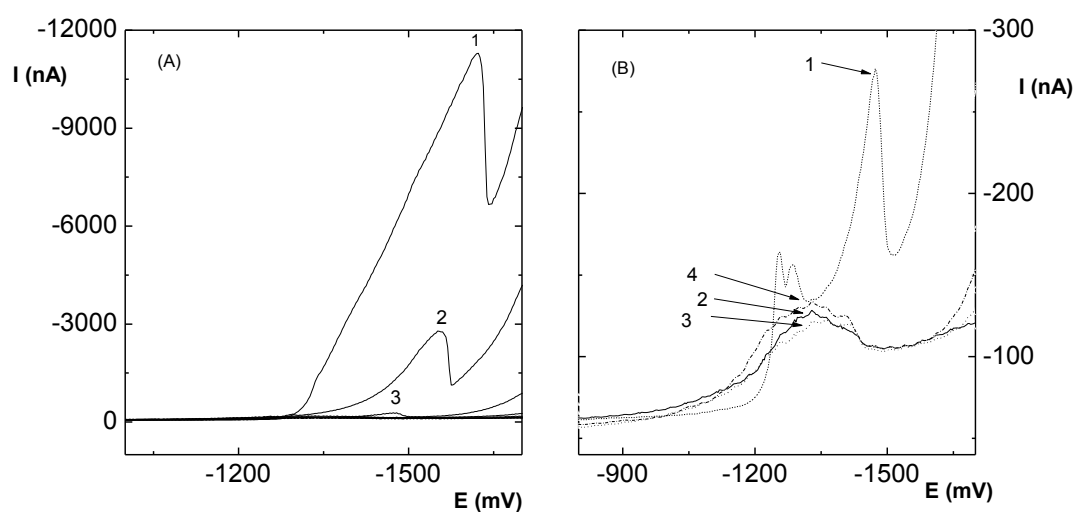
3.2.1.1 Vliv pH prostředí na chování CDCA

Ke studiu vlivu pH prostředí na chování CDCA o koncentraci $c = 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ byla dále použita metoda DCV na HMDE. Měření bylo prováděno v rozmezí pH BR pufru 12,0 – 4,0. Příslušné voltamogramy jsou na **obr. 18**, v **tab. 9** jsou uvedeny hodnoty velikosti potenciálu píku a proudu píku pro daná pH. Potenciál píku v rozmezí pH 12,0 – 7,0 kolísá mezi hodnotami potenciálů -1332 až -1361 mV , od pH 6,0 pak dochází stejně jako na m-AgSAE k prudkému posunu do záporné oblasti potenciálů, viz **obr. 19**.

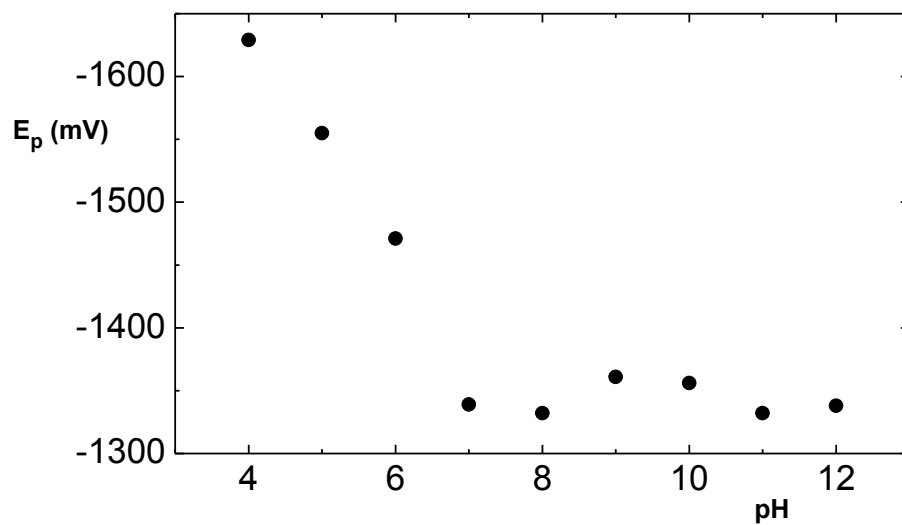
Obdobné chování můžeme pozorovat i u velikosti proudu píku, viz **obr. 20**. V rozmezí hodnot pH 12,0 – 7,0 se velikost proudu píku pohybuje mezi hodnotami $-49,3$ až $-105,3 \text{ nA}$. Od pH 6,0 nastává výrazný nárůst velikosti proudu píku s nejvyšší hodnotou v pH 4,0. Změnu v chování u pH 4,0 lze stejně jako u metody DPV na m-AgSAE spojit s protonizací karboxylové skupiny COO^- na C_{24} , kdy dochází k vysrážení CDCA z roztoku a snadnější adsorpci CDCA na povrch elektrody.

Tab. 9 Velikosti potenciálu píku E_p a proudu píku I_p v závislosti na pH BR pufru měřené metodou DCV na HMDE v roztoku CDCA o koncentraci $c = 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ v prostředí BR pufr – methanol (9:1).

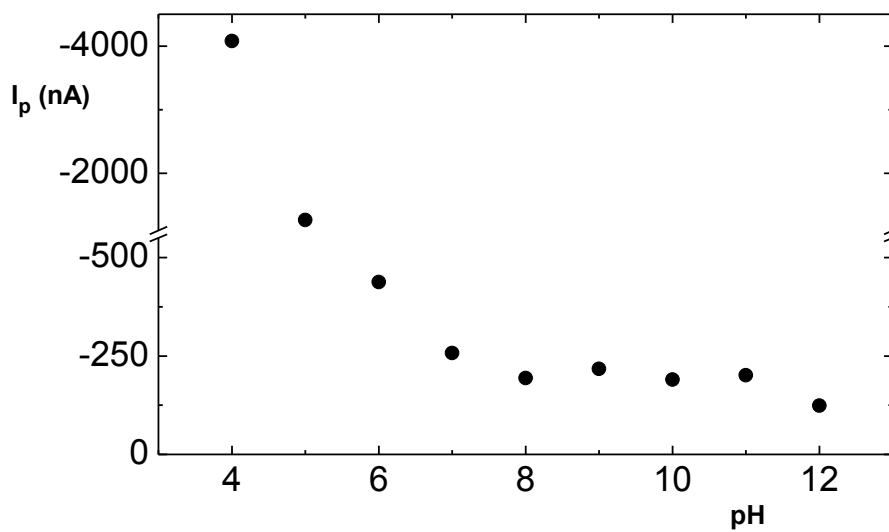
pH	E_p (mV)	I_p (nA)
4,0	-1629	-11260,0
5,0	-1555	-2677,0
6,0	-1471	-195,6
7,0	-1339	-105,3
8,0	-1332	-69,0
9,0	-1361	-54,4
10,0	-1356	-50,7
11,0	-1332	-69,0
12,0	-1338	-49,3



Obr. 18 Voltamogramy CDCA ($c = 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) měřené metodou DCV na HMDE v prostředí BR pufr – methanol (9:1). pH BR pufru: (A) 4,0 (1), 5,0 (2), 6,0 (3), (B) výřez z obr. (A): 6,0 (1), 8,0 (2), 10,0 (3), 12,0 (4).



Obr. 19 Závislost potenciálu píku E_p CDCA ($c = 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) na pH BR pufru měřená metodou DCV na HMDE v prostředí BR pufr – methanol (9:1).



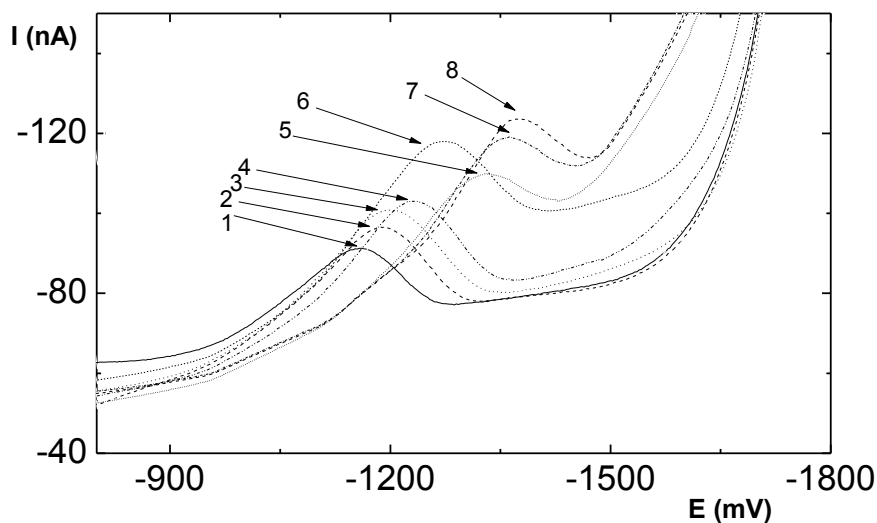
Obr. 20 Závislost proudu píku I_p CDCA ($c = 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) na pH BR pufru měřená metodou DCV na HMDE v prostředí BR pufr – methanol (9:1).

3.2.1.2 Koncentrační závislost CDCA

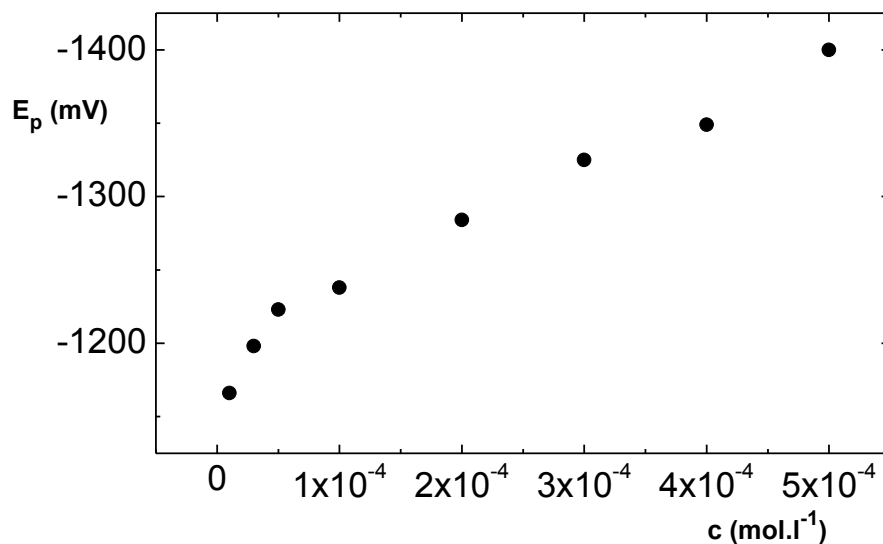
Metodou DCV byla změřena kalibrační závislost v prostředí 0,04 mol.l⁻¹ borátový pufr (pH 9,1) – methanol (9:1) a v prostředí BR pufr (pH 4,0) – methanol (9:1).

Pro pH 9,1 bylo změřeno koncentrační rozmezí $c = 1 \cdot 10^{-5} - 4,77 \cdot 10^{-4}$ mol.l⁻¹, naměřené voltamogramy jsou na **obr. 21**. S rostoucí koncentrací se potenciál píku posouvá do zápornějších potenciálů, celkový posun je přibližně 240 mV. Graf této závislosti je na **obr. 22**. Graf závislosti velikosti proudu píku na koncentraci je na **obr. 23**. Velikost proudu píku roste lineárně jen u nižších koncentrací, parametry kalibrační přímky jsou v **tab. 10**. Hodnoty LOD a LOQ byly vypočítány z deseti po sobě jdoucích měření pro nejnížší změřenou koncentraci.

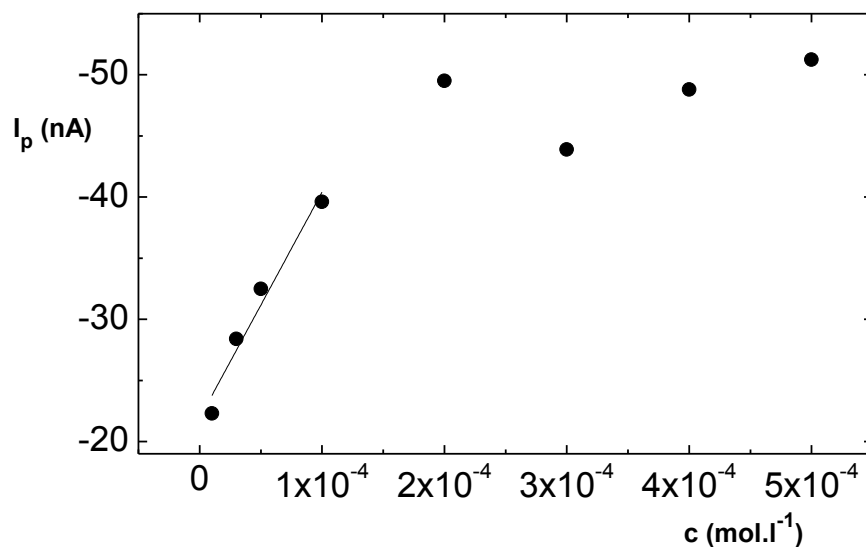
Pro pH 4,0 bylo změřeno koncentrační rozmezí $c = 2,99 \cdot 10^{-5} - 4,77 \cdot 10^{-4}$ mol.l⁻¹, příslušné voltamogramy jsou na **obr. 24**. Do koncentrace $9,91 \cdot 10^{-5}$ mol.l⁻¹, kdy nedocházelo ke srážení roztoku, roste proud píku lineárně, od koncentrace $1,96 \cdot 10^{-4}$ mol.l⁻¹ je velikost proudu přibližně konstantní. Graf této závislosti je na **obr. 26**, parametry lineární závislosti jsou v **tab. 11**. Obdobné chování je vidět i u potenciálu píku na **obr. 25**. Hodnoty LOD a LOQ byly vypočítány z pěti po sobě jdoucích měření nejnížší naměřené koncentrace.



Obr. 21 Voltamogramy CDCA měřené metodou DCV na HMDE v prostředí 0,04 mol.l⁻¹ borátový pufr (pH 9,1) – methanol (9:1) o koncentracích: 1.10⁻⁵ mol.l⁻¹ (1), 2,99.10⁻⁵ mol.l⁻¹ (2), 4,97.10⁻⁵ mol.l⁻¹ (3), 9,91.10⁻⁵ mol.l⁻¹ (4), 1,96.10⁻⁴ mol.l⁻¹ (5), 2,92.10⁻⁴ mol.l⁻¹ (6), 3,85.10⁻⁴ mol.l⁻¹ (7), 4,77.10⁻⁴ mol.l⁻¹ (8).



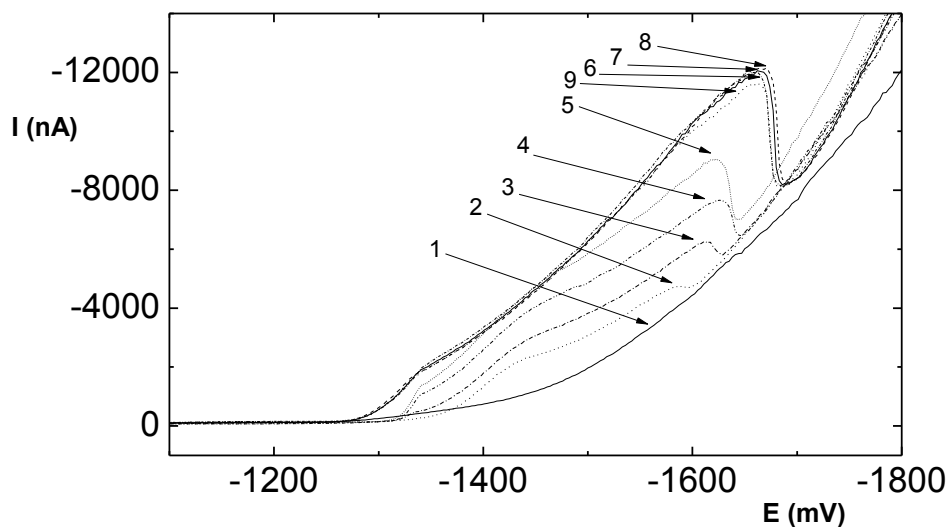
Obr. 22 Závislost potenciálu píku E_p na koncentraci CDCA v rozmezí $c = 1.10^{-5} - 4,77.10^{-4}$ mol.l⁻¹ měřená metodou DCV na HMDE v prostředí 0,04 mol.l⁻¹ borátový pufr (pH 9,1) – methanol (9:1).



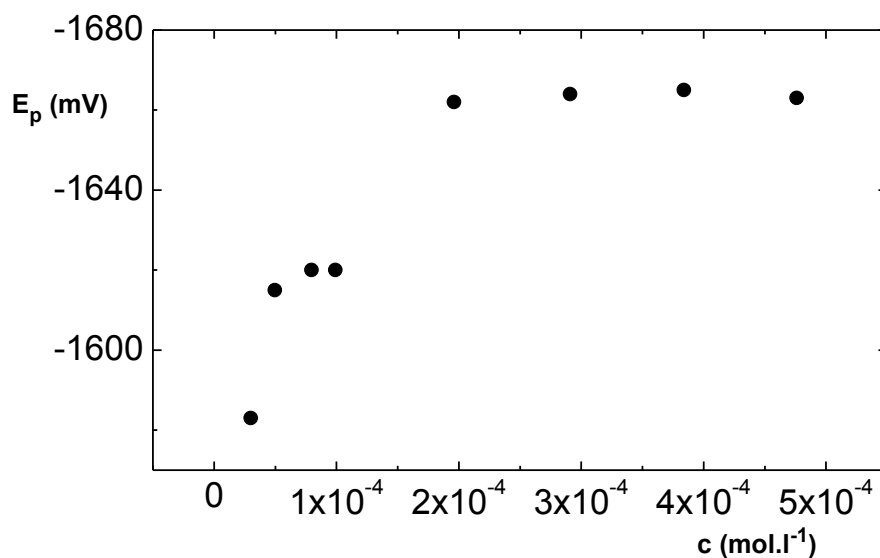
Obr. 23 Závislost proudu píku I_p na koncentraci CDCA v rozmezí $c = 1.10^{-5} - 4,77.10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ měřená metodou DCV na HMDE v prostředí $0,04 \text{ mol.l}^{-1}$ borátový pufr (pH 9,1) – methanol (9:1).

Tab. 10 Parametry kalibrační přímky pro stanovení CDCA metodou DCV na HMDE v prostředí $0,04 \text{ mol.l}^{-1}$ borátový pufr (pH 9,1) – methanol (9:1).

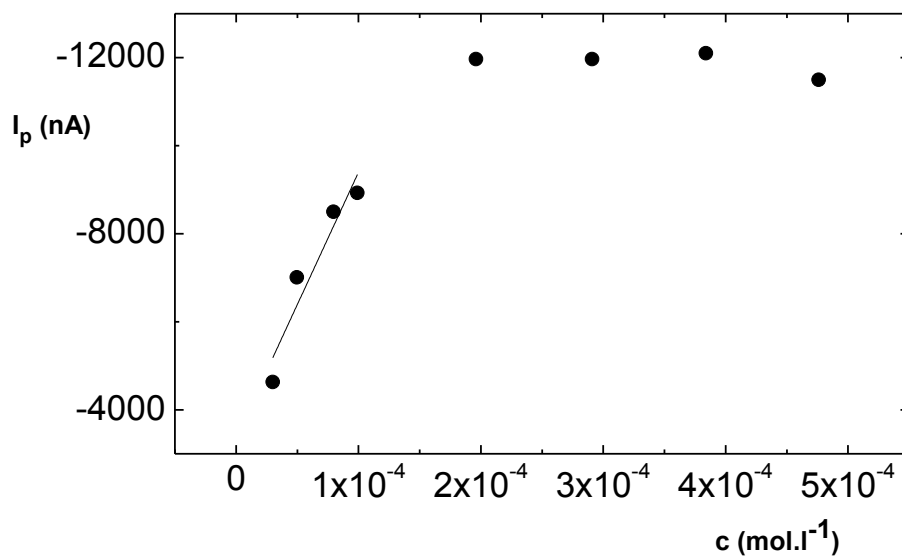
$c \text{ (mol.l}^{-1}\text{)}$	směrnice ($\text{nA.mol}^{-1}.\text{l}$)	úsek (nA)	korelační koeficient	LOD (mol.l^{-1})	LOQ (mol.l^{-1})
$(1,0 - 9,91).10^{-5}$	-185000,0	-22,0	0,9482	$1,67.10^{-5}$	$5,56.10^{-5}$



Obr. 24 Voltamogramy CDCA měřené metodou DCV na HMDE v prostředí BR pufr (pH 4,0) – methanol (9:1) o koncentracích: základní elektrolyt (1), $2,99 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$ (2), $4,97 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$ (3), $7,96 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$ (4), $9,91 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$ (5), $1,96 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ (6), $2,92 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$ (7), $3,85 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$ (8), $4,77 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ (9).



Obr. 25 Závislost potenciálu píku E_p na koncentraci CDCA v rozmezí $c = 2,99 \cdot 10^{-5} - 4,77 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ měřená metodou DCV na HMDE v prostředí BR pufr (pH 4,0) – methanol (9:1).



Obr. 26 Závislost proudu píku I_p na koncentraci CDCA v rozmezí $c = 2,99 \cdot 10^{-5} - 4,77 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ měřená metodou DCV na HMDE v prostředí BR pufr (pH 4,0) – methanol (9:1).

Tab. 11 Parametry kalibrační přímky pro stanovení CDCA metodou DCV na HMDE v prostředí BR pufr (pH 4,0) – methanol (9:1).

$c \text{ (mol.l}^{-1}\text{)}$	směrnice (nA.mol ⁻¹ .l)	úsek (nA)	korelační koeficient	LOD (mol.l ⁻¹)	LOQ (mol.l ⁻¹)
$(2,99 - 9,91) \cdot 10^{-5}$	$-6,01400 \cdot 10^7$	-2282,0	0,8674	$6,7 \cdot 10^{-7}$	$2,24 \cdot 10^{-6}$

3.2.3. Diferenční pulsní voltametrie chenodeoxycholové kyseliny

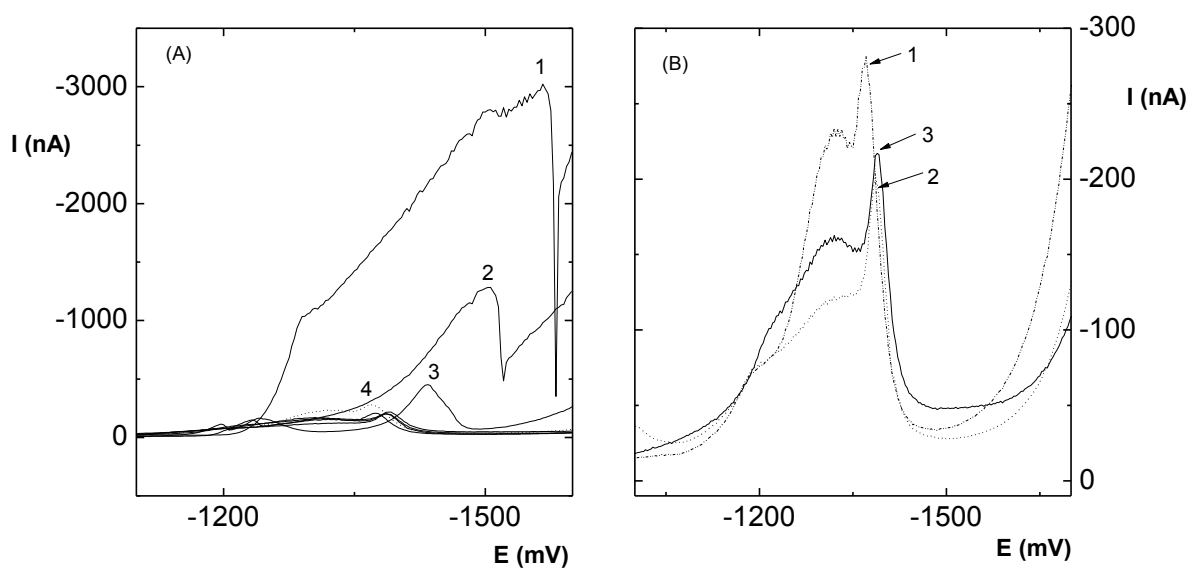
3.2.3.1 Vliv pH prostředí na chování CDCA

Vliv pH prostředí na chování CDCA o koncentraci $c = 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ byl studován také metodou DPV na HMDE v rozmezí pH 12,0 – 4,0. Příslušné voltamogramy jsou na **obr. 27**, v **tab. 12** jsou uvedeny velikosti potenciálů a proudů píků pro daná pH.

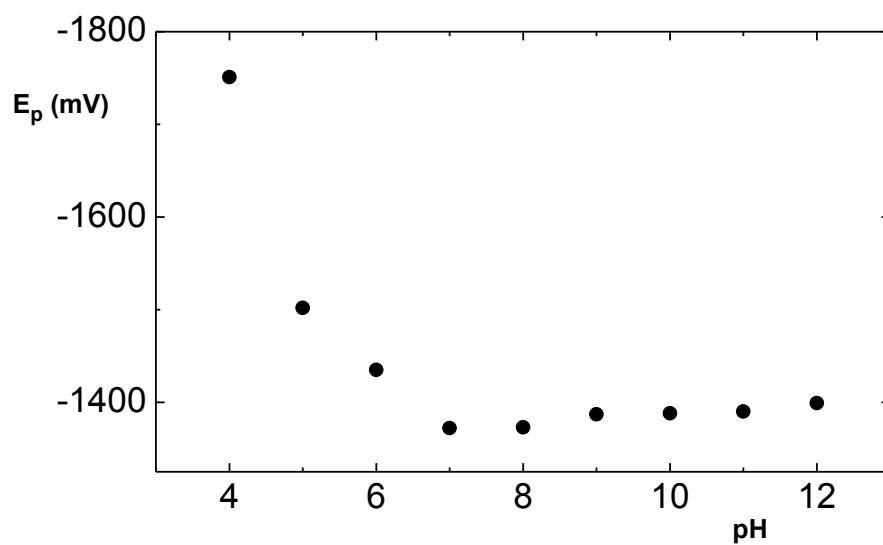
Graf závislosti velikosti potenciálu píku na pH je na **obr. 28**. Opět je vidět odlišné chování pro hodnoty pH 12,0 – 7,0, a pro pH 6,0 – 4,0. Do pH 7,0 dochází k posunu potenciálu do kladných hodnot o 27 mV, od pH 6,0 je patrný skok o 63 mV do kladné oblasti potenciálů. Graf závislosti velikosti proudu píku na pH je na **obr. 29**. Stejně jako v předchozích případech nastává prudký nárůst velikosti proudu píku od pH 6,0 s nejvyšší hodnotou u pH 4,0, ve kterém došlo k vysrážení roztoku. Celkově lze však říci, že píky nemají rovnoměrný tvar a jsou proto obtížně vyhodnotitelné.

Tab. 12 Velikosti potenciálu píku E_p a proudu píku I_p na pH BR pufru měřené metodou DPV na HMDE v roztoku CDCA o koncentraci $c = 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ v prostředí BR pufr – methanol (9:1).

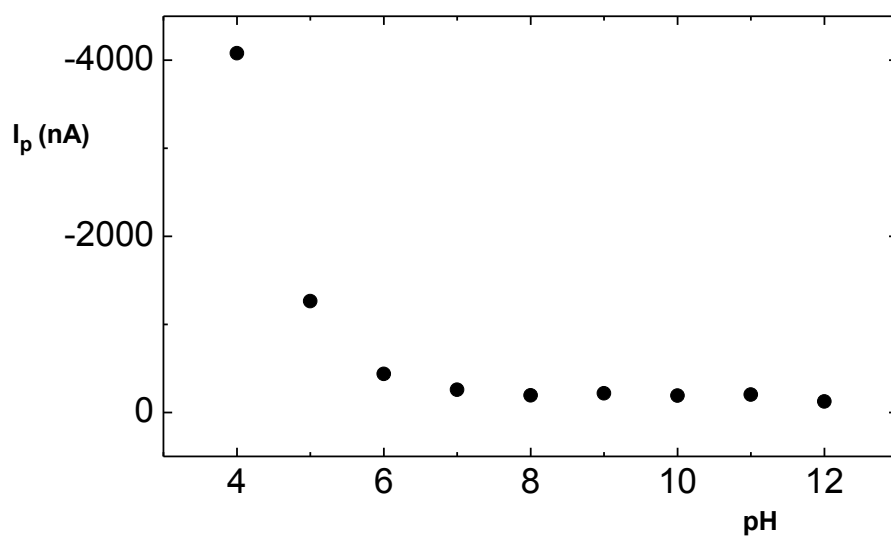
pH	E_p (mV)	I_p (nA)
4,0	-1751	-4080,3
5,0	-1502	-1264,0
6,0	-1435	-437,6
7,0	-1372	-257,7
8,0	-1373	-193,9
9,0	-1387	-217,3
10,0	-1388	-190,0
11,0	-1390	-201,0
12,0	-1399	-123,8



Obr. 27 Voltamogramy CDCA ($c = 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) měřené metodou DPV na HMDE v prostředí BR pufr – methanol (9:1). pH BR pufru: (A) 4,0 (1), 5,0 (2), 6,0 (3), 7,0 (4), (B) výřez z obr (A): 7,0 (1), 9,0 (2), 11,0 (3).



Obr. 28 Závislost potenciálu píku E_p CDCA ($c = 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) na pH BR pufru měřená metodou DPV na HMDE v prostředí BR pufr – methanol (9:1).



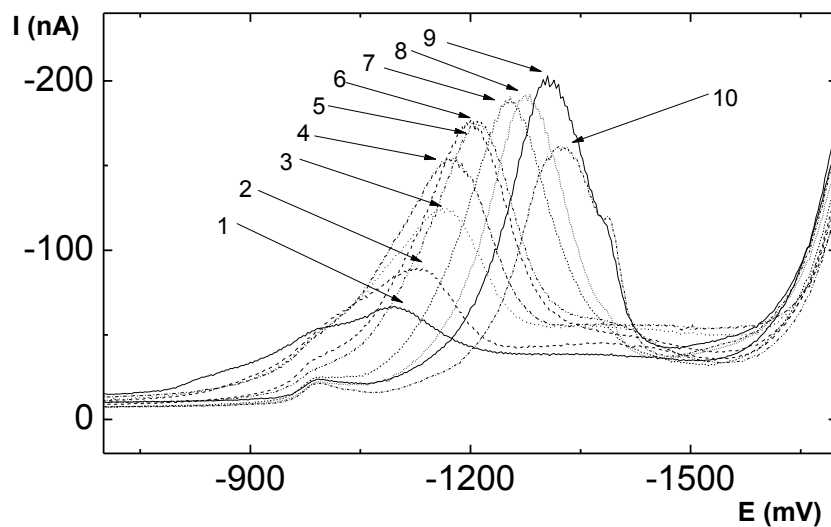
Obr. 29 Závislost proudu píku I_p CDCA ($c = 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) na pH BR pufru měřená metodou DPV na HMDE v prostředí BR pufr – methanol (9:1)

3.2.3.2 Koncentrační závislost CDCA

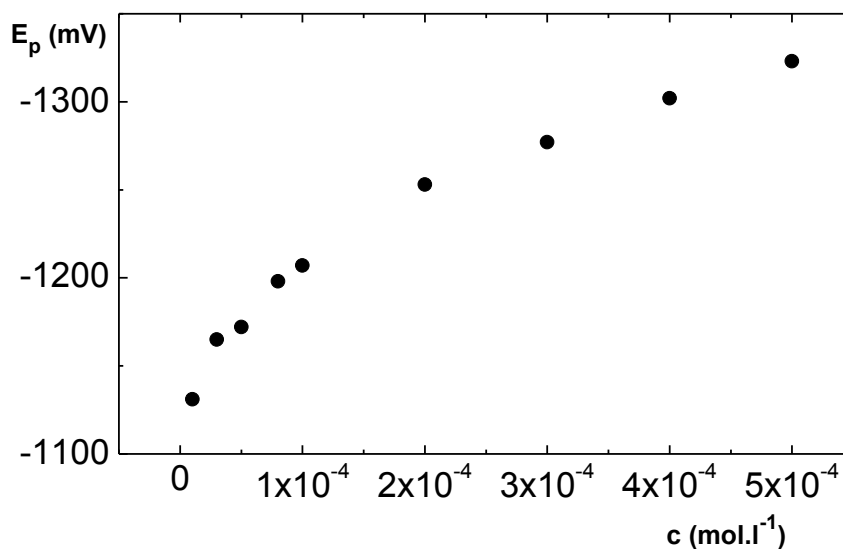
Koncentrační závislost CDCA byla měřena metodou DPV na HMDE v prostředí 0,04 mol.l⁻¹ borátový pufr (pH 9,0) – methanol (9:1) a v prostředí BR pufr (pH 4,0) – methanol (9:1).

Pro pH 9,1 bylo proměřeno koncentrační rozmezí $c = 1 \cdot 10^{-5} - 4,77 \cdot 10^{-4}$ mol.l⁻¹, příslušné voltamogramy jsou na **obr. 30**. Závislost potenciálu píku na koncentraci je na **obr. 31**, velikost proudu v závislosti na koncentraci je na **obr. 32**. S rostoucí koncentrací došlo k posunu potenciálu píku o 192 mV do záporné oblasti. Lineární je nárůst proudu píku jen do koncentrace $9,91 \cdot 10^{-5}$ mol.l⁻¹, parametry této závislosti jsou v **tab. 13**; pro vyšší koncentrace již není nárůst výšky píku lineární. Hodnoty LOD a LOQ byly spočítány pro nejnižší změřenou hodnotu koncentrace z deseti opakovaných měření.

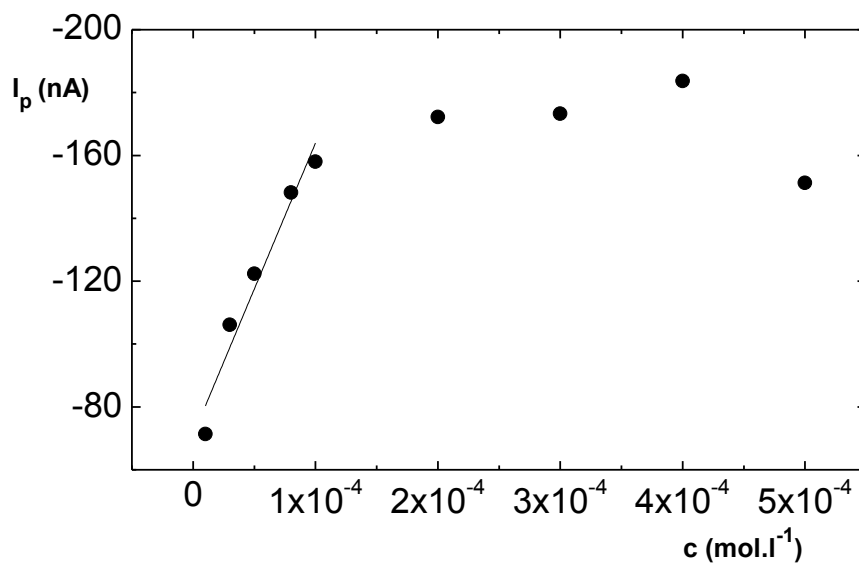
Pro pH 4,0 bylo změřeno koncentrační rozmezí $2,99 \cdot 10^{-5} - 4,77 \cdot 10^{-4}$ mol.l⁻¹. Voltamogramy pro toto pH jsou na **obr. 33**. Je zřejmé, že od koncentrace $7,96 \cdot 10^{-5}$ mol.l⁻¹ došlo ke změně chování CDCA, pro tuto koncentraci není zřetelný jeden pík a pro vyšší koncentrace dochází k prudkému posunu potenciálu píku do zápornější oblasti. Graf této závislosti je na **obr. 34**. Podobné chování se projevuje i u proudu píku, viz **obr. 35**. Proud píku roste lineárně do koncentrace $4,97 \cdot 10^{-5}$ mol.l⁻¹, poté dochází k saturaci a výška píku již zřetelně nenarůstá. K vysrážení roztoku CDCA došlo od koncentrace $1,96 \cdot 10^{-4}$ mol.l⁻¹. Parametry lineární závislosti jsou uvedeny v **tab. 14**, hodnoty LOD a LOQ byly spočítány pro nejnižší naměřenou koncentraci z deseti opakovaných měření.



Obr. 30 Voltamogramy CDCA měřené metodou DPV na HMDE v prostředí 0,04 mol.l⁻¹ borátový pufr (pH 9,0) – methanol (9:1) o koncentracích: základní elektrolyt (1), 1.10⁻⁵ mol.l⁻¹ (2), 2,99.10⁻⁵ (3), 4,97.10⁻⁵ mol.l⁻¹ (4), 7,96 10⁻⁴ mol.l⁻¹ (5), 9,91.10⁻⁵ mol.l⁻¹ (6), 1,96.10⁻⁴ mol.l⁻¹ (7), 2,92.10⁻⁴ mol.l⁻¹ (8), 3,85.10⁻⁴ mol.l⁻¹ (9), 4,77.10⁻⁴ mol.l⁻¹ (10).



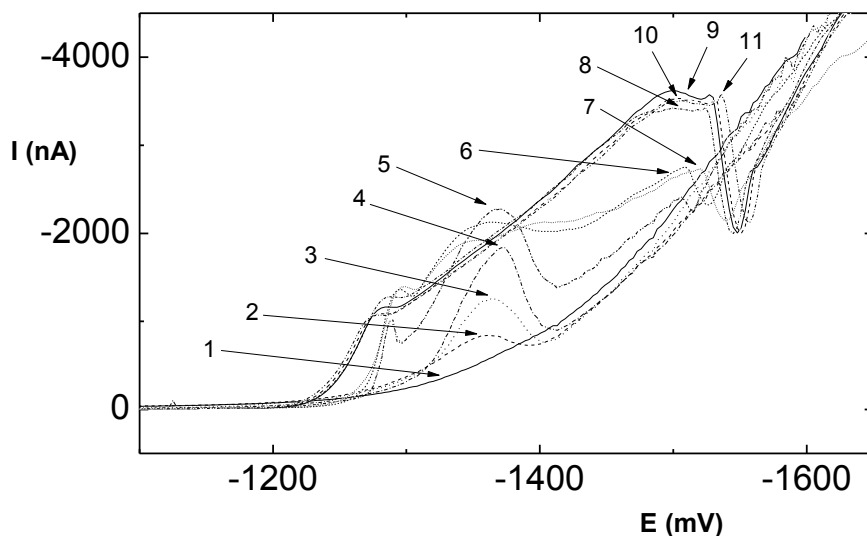
Obr. 31 Závislost potenciálu píku E_p na koncentraci CDCA v rozmezí $c = 1.10^{-5} - 4,77.10^{-4}$ mol.l⁻¹ měřená metodou DPV na HMDE v prostředí 0,04 mol.l⁻¹ borátový pufr (pH 9) – methanol (9:1).



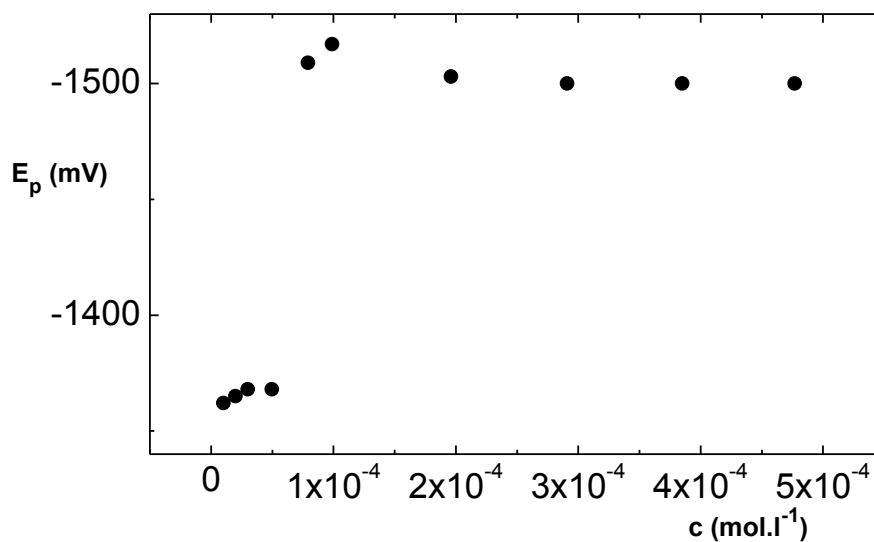
Obr. 32 Závislost proudu píku I_p na koncentraci CDCA v rozmezí $c = 1.10^{-5} - 4,77.10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ měřená metodou DPV na HMDE v prostředí $0,04 \text{ mol.l}^{-1}$ borátový pufr (pH 9) – methanol (9:1).

Tab. 13 Parametry kalibrační přímky pro stanovení CDCA metodou DPV na HMDE v prostředí $0,04 \text{ mol.l}^{-1}$ borátový pufr (pH 9) – methanol (9:1).

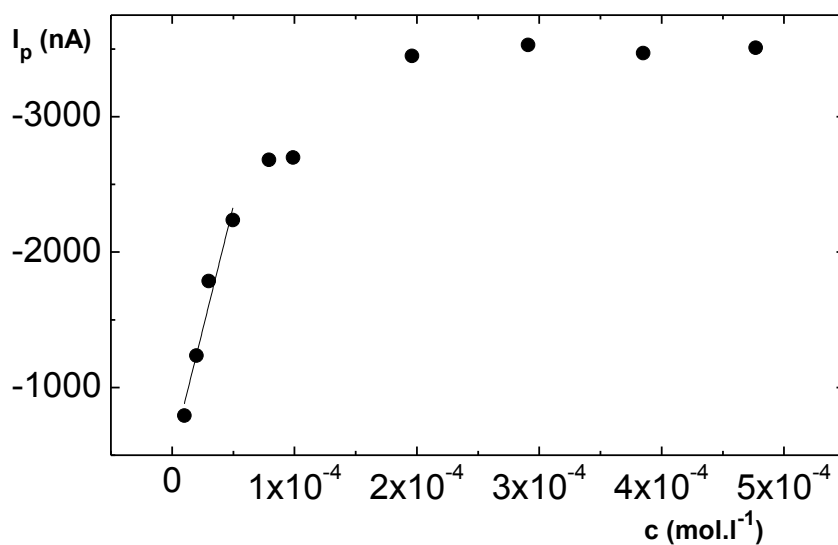
$c \text{ (mol.l}^{-1}\text{)}$	směrnice ($\text{nA.mol}^{-1}.\text{l}$)	úsek (nA)	korelační koeficient	LOD (mol.l^{-1})	LOQ (mol.l^{-1})
$(1,0 - 9,91).10^{-5}$	-92900,0	-71,0	0,9447	$1,74.10^{-5}$	$5,79.10^{-5}$



Obr. 33 Voltamogramy CDCA měřené metodou DPV na HMDE v prostředí BR pufr (pH 4,0) – methanol (9:1) o koncentracích: základní elektrolyt (1), $1,10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$ (2), $1,99 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$ (3), $2,99 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$ (4), $4,97 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$ (5), $7,96 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$ (6), $9,91 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$ (7), $1,96 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ (8), $2,92 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ (9), $3,85 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ (8), $4,77 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ (9).



Obr. 34 Závislost potenciálu píku E_p na koncentraci CDCA v rozmezí $c = 2,99 \cdot 10^{-5} - 4,77 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ měřená metodou DCV na HMDE v prostředí BR pufr (pH 4,0) – methanol (9:1).



Obr. 35 Závislost proudu píku I_p na koncentraci CDCA v rozmezí $c = 1,10^{-5} - 4,77 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ měřená metodou DCV na HMDE v prostředí BR pufr (pH 4,0) – methanol (9:1).

Tab. 14 Parametry kalibrační přímky pro stanovení CDCA metodou DPV na HMDE v prostředí BR pufr (pH 4,0) – methanol (9:1).

$c \text{ (mol.l}^{-1}\text{)}$	směrnice ($\text{nA.mol}^{-1}.\text{l}$)	úsek (nA)	korelační koeficient	LOD (mol.l^{-1})	LOQ (mol.l^{-1})
$(1,0 - 4,97) \cdot 10^{-5}$	$-3,64000 \cdot 10^7$	-515,0	0,9397	$6,65 \cdot 10^{-6}$	$2,22 \cdot 10^{-5}$

3.3. Cyklická voltametrie chenodeoxycholové kyseliny na visící rtuťové kapkové elektrodě

Metoda cyklické voltametrie byla použita ke studiu elektrodoých dějů probíhajících na HMDE elektrodě v prostředí 0,04 mol.l⁻¹ borátový pufr (pH 9,1) – methanol (9:1) a v prostředí BR pufr (pH 4,0) – methanol (9:1).

V rozmezí rychlostí polarizace 20 – 2560 mV.s⁻¹ bylo provedeno měření v prostředí 0,04 mol.l⁻¹ borátový pufr (pH 9,1) – methanol (9:1). Hodnoty pro katodický a anodický potenciál píku a pro katodický a anodický proud píku jsou uvedeny v **tab. 15**. Závislost velikosti katodického a anodického proudu píku na rychlosti polarizace je lineární (viz **obr. 38** a parametry lineární závislosti v **tab. 16**), proto jde o děj kontrolovaný adsorpcí. Zároveň klesá poměr jejich velikosti z hodnoty 5,5 na 1,2. Jde tedy o děj quasireversibilní. Pro potenciál píku platí na katodické straně posun do záporné oblasti potenciálů, na anodické straně je pak tento posun do kladné oblasti potenciálů. Graficky je tato závislost zobrazena na **obr. 37**.

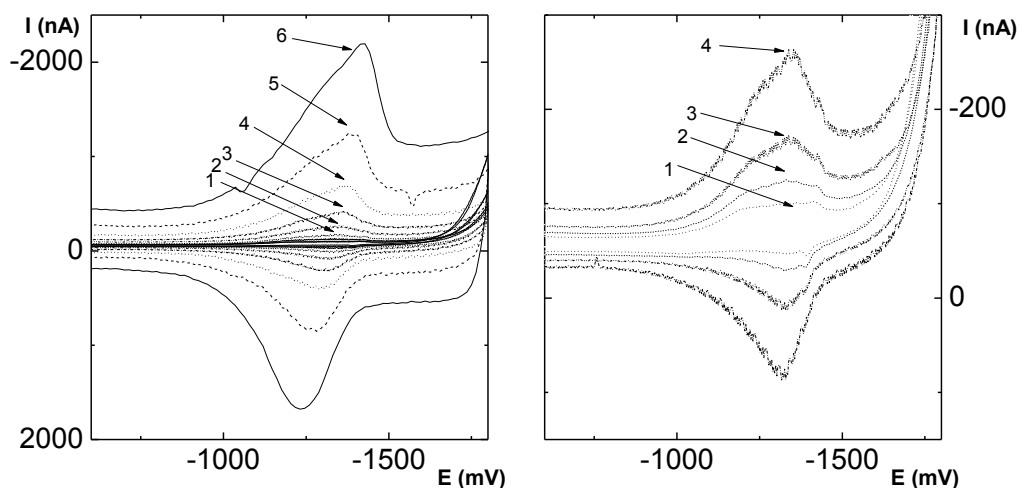
V prostředí v prostředí BR pufr (pH 4,0) – methanol (9:1) bylo provedeno měření v rozmezí rychlostí polarizace 10 – 1280 mV.s⁻¹. V **tab. 17** jsou uvedeny hodnoty pro katodický a anodický potenciál a pro katodický a anodický proud píku, příslušné voltamogramy jsou na **obr. 39**. Potenciál píku se na katodické straně posouvá s rostoucí rychlostí do záporné oblasti potenciálů, na anodické straně je posun do kladné oblasti, viz **obr. 40**. Opět se tvoří anodický protipík, který je v rozmezí rychlostí polarizace 10 – 640 mV.s⁻¹ netypicky otočen do katodické oblasti podobně jako u amalgámové elektrody. U rychlosti 1280 mV.s⁻¹ se anodický pík otáčí do kladné oblasti proudu.

Závislost velikosti proudu na odmocnině rychlosti polarizace je na **obr. 41**. Pro nižší rychlosti je závislost lineární pro katodický i anodický proud, jde tedy o děj řízený difúzí. Parametry lineární závislosti jsou uvedeny v **tab. 18**.

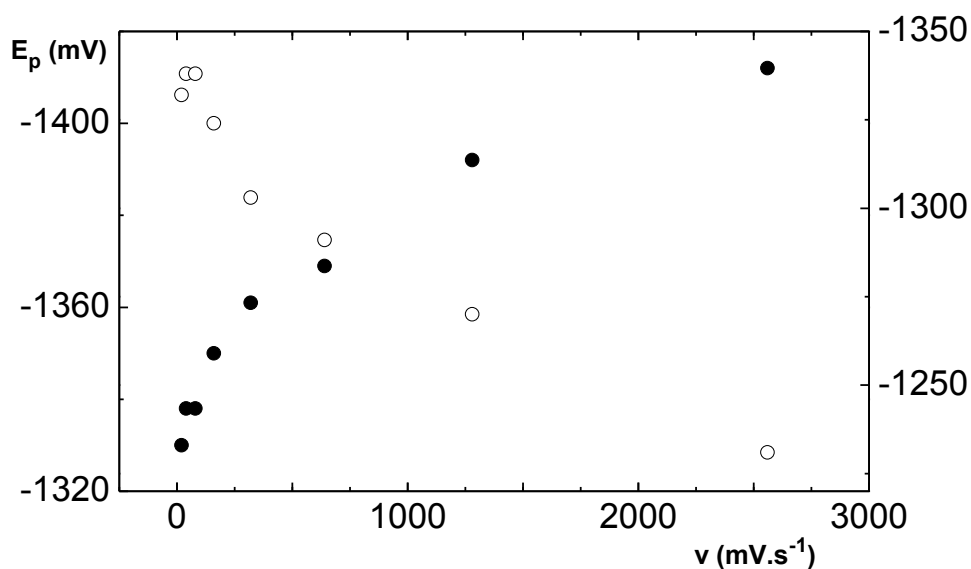
Tab. 15 Katodický a anodický potenciál píku E_k , E_a a jejich rozdíl ΔE_p a poměr I_k/I_a CDCA ($c = 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) měřeno na HMDE metodou CV v rozmezí rychlostí polarizace 20 – 2560 mV.s^{-1} v prostředí 0,04 mol.l^{-1} borátový pufr (pH 9,1) – methanol (9:1).

$\nu \text{ (mV.s}^{-1}\text{)}$	$E_k \text{ (mV)}$	$E_a \text{ (mV)}$	ΔE_p	I_k / I_a
20	-1335	-1315	20 ^a	5,5
40	-1343	-1324	19 ^a	4,4
80	-1348	-1325	23 ^a	2,2
160	-1350	-1324	26	1,6
320	-1361	-1303	58	1,3
640	-1369	-1291	78	1,4
1280	-1392	-1270	122	1,2
2560	-1412	-1231	181	1,2

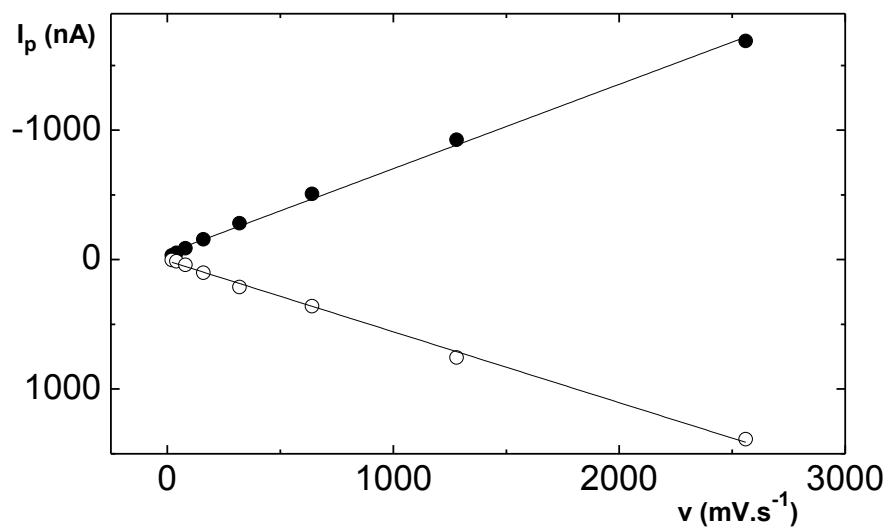
^a obtížně vyhodnotitelné, plochý pík.



Obr. 36 Cyklické voltamogramy CDCA ($c = 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) měřené na HMDE v prostředí $0,04 \text{ mol.l}^{-1}$ borátový pufr (pH 9,1) – methanol (9:1) o rychlostech polarizace: (A) 80 mV.s^{-1} (1), 160 mV.s^{-1} (2), 320 mV.s^{-1} (3), 640 mV.s^{-1} (4), 1280 mV.s^{-1} (5), 2560 mV.s^{-1} (6), (B) 20 mV.s^{-1} (1), 40 mV.s^{-1} (2), 80 mV.s^{-1} (3), 160 mV.s^{-1} (4).



Obr. 37 Závislost katodického (●; levá osa y) a anodického (○; pravá osa y) potenciálu píku E_p CDCA ($c = 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) na rychlosti polarizace v rozmezí $20 - 2560 \text{ mV.s}^{-1}$. Měřeno metodou CV na HMDE v prostředí $0,04 \text{ mol.l}^{-1}$ borátový pufr (pH 9,1) – methanol (9:1).



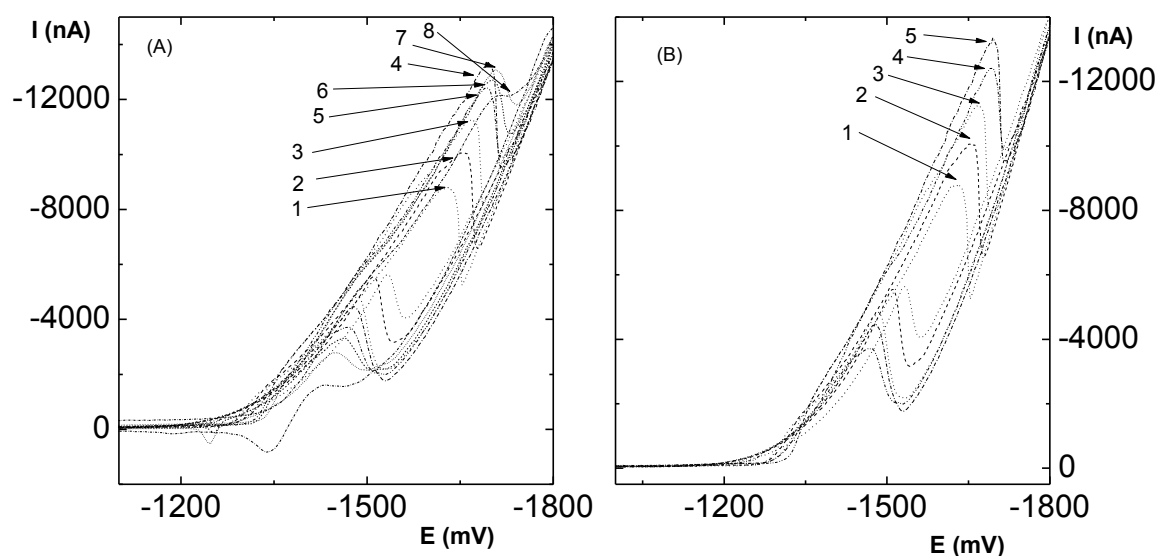
Obr. 38 Závislost velikosti katodického (●) a anodického (○) proudu píku I_p CDCA ($c = 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) na rychlosti polarizace v rozmezí 20 – 2560 mV.s^{-1} . Měřeno metodou CV na HMDE v prostředí 0,04 mol.l^{-1} borátový pufr (pH 9,1) – methanol (9:1).

Tab. 16 Parametry lineární závislosti katodického a anodického proudu píku I_p pro CDCA ($c = 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$). Měřeno metodou CV na HMDE v prostředí 0,04 mol.l^{-1} borátový pufr (pH 9,1) – methanol (9:1)

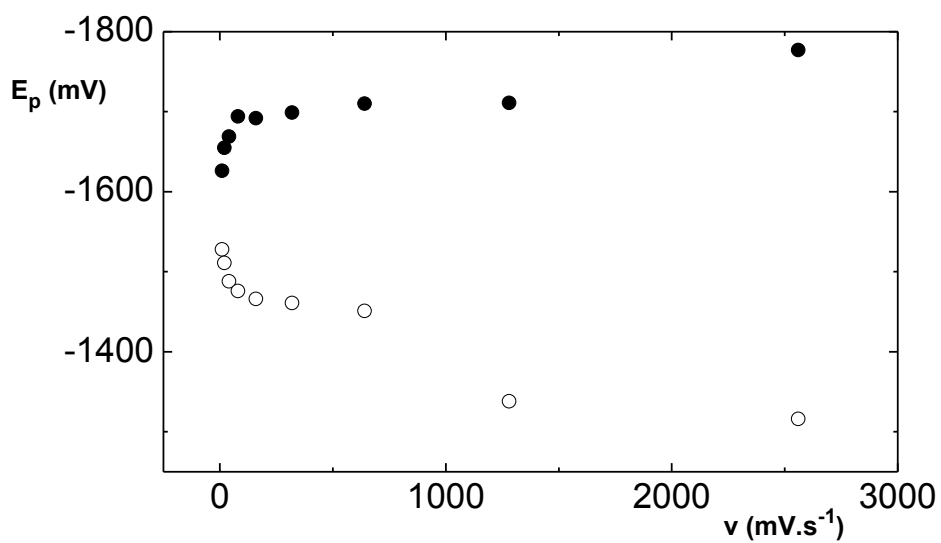
	signál	směrnice ($\text{nA.mV}^{-1}.\text{s}$)	úsek (nA)	korelační koeficient
pík	katodický	-0,6558	-44,2	0,9965
	anodický	0,5485	8,5	0,9973

Tab. 17 Katodický a anodický potenciál píku E_k , E_a a jejich rozdíl ΔE_p a poměr I_k/I_a CDCA ($c = 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) měřeno na HMDE metodou CV v rozmezí rychlostí polarizace 10 – 1280 mV.s^{-1} v prostředí BR pufr (pH 4,0) – methanol (9:1).

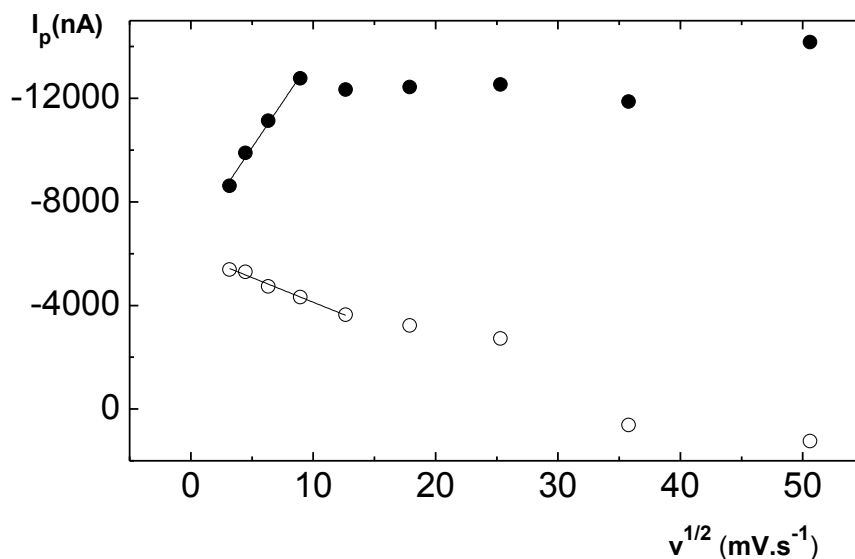
$\nu \text{ (mV.s}^{-1}\text{)}$	$E_k \text{ (mV)}$	$E_a \text{ (mV)}$	ΔE_p	$I_k \text{ (nA)}$	$I_a \text{ (nA)}$
10	-1626	-1528	98	-8623	-5390
20	-1655	-1511	144	-9892	-5299
40	-1669	-1488	181	-11133	-4732
80	-1694	-1476	218	-12767	-4317
160	-1692	-1466	226	-12233	-3639
320	-1699	-1461	238	-12433	-3225
640	-1710	-1451	259	-12533	-2726
1280	-1711	-1338	373	-11867	624



Obr. 39 Cyklické voltamogramy CDCA ($c = 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) měřené na HMDE v prostředí BR pufr (pH 4,0) – methanol (9:1) o rychlostech polarizace: (A) 10 mV.s^{-1} (1), 20 mV.s^{-1} (2), 40 mV.s^{-1} (3), 80 mV.s^{-1} (4), 160 mV.s^{-1} (5), 320 mV.s^{-1} (6), 640 mV.s^{-1} (7), 1280 mV.s^{-1} (8), (B) výřez z obr. (A) 10 mV.s^{-1} (1), 20 mV.s^{-1} (2), 40 mV.s^{-1} (3), 80 mV.s^{-1} (4), 160 mV.s^{-1} (5).



Obr. 40 Závislost katodického (●) a anodického (○) potenciálu píku E_p CDCA ($c = 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) na rychlosti polarizace v rozmezí $10 - 1280 \text{ mV.s}^{-1}$. Měřeno metodou CV na HMDE v prostředí BR pufr (pH 4,0) – methanol (9:1).



Obr. 41 Závislost katodického (●) a anodického (○) proudu píku I_p CDCA o koncentraci $c = 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ na odmocnině rychlosti polarizace v rozmezí 10 – 1280 mV.s^{-1} . Měřeno metodou CV na HMDE v prostředí BR pufr (pH 4,0) – methanol (9:1).

Tab. 18 Parametry lineární závislosti katodického a anodického proudu píku I_p pro CDCA ($c = 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) v rozsahu rychlostí polaritace pro katodický pík 10 – 80 mV.s^{-1} a pro anodický pík 10 – 160 mV.s^{-1} . Měřeno metodou CV na m-AgSAE v prostředí BR pufr (pH 4,0) – methanol (9:1).

		signál	směrnice (nA.mV ⁻¹ .s)	úsek (nA)	korelační koeficient
pík	katodický		-702,8	-6582,1	0,9869
	anodický		190,6	-6030,4	0,9840

4. Závěr

Bylo prostudováno chování CDCA metodami diferenční pulzní voltametrie a DC voltametrie ve smíšeném prostředí methanol – vodný pufr (1:9) o různých hodnotách pH na stacionárních rtuťových elektrodách m-AgSAE a HMDE.

Bylo zjištěno, že CDCA poskytuje v rozmezí pH 4-12 jeden redukční signál v oblasti vysoce záporných potenciálů kolem -1400 mV. Pro pufr o nižším pH než 6,0, kdy dochází k postupné protonizaci karboxylové skupiny na C_{24} , nastává výrazná změna v chování CDCA oproti ostatním hodnotám pH pozorovatelná jak na m-AgSAE tak na HMDE metodami DC voltametrie a DPV. Nejvýraznější změna byla pozorována při pH 4,0, kdy se tvoří jeden výrazný pík s ostrým zlomem a od koncentrace $2 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ dochází k vysrážení CDCA z roztoku. CDCA byla proto dále studována ve dvou prostředích a to v $0,04 \text{ mol.l}^{-1}$ borátový pufr (pH 9,1) – methanol (9:1) a BR pufr (pH 4,0) – methanol (9:1). Pro obě prostředí bylo dosaženo nejnižší meze detekce metodou DC voltametrie na HMDE a to $6,7 \cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$ (pH 4,0) a $1,67 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$ (pH 9,1).

Metoda cyklické voltametrie byla použita ke studiu elektrodového děje. Opět bylo provedeno měření pro pH 9,1 a 4,0. V obou prostředích látka poskytuje katodický pík s anodickým protipíkem. Pro pH 9,1 se jedná o quasireversibilní děj řízený adsorpcí na obou studovaných elektrodách. Pro pH 4,0 je pro nižší rychlosti děj řízený difúzí, což bylo prokázáno na obou elektrodách. Při vyšších rychlostech dochází k tvorbě protipíku, který netypicky vykazuje katodický proud. Obě elektrody vykazují v tomto pH analogické chování. Netypické chování CDCA při pH 4,0 by mohlo souviset s adsorpčními a desorpčními procesy na povrchu elektrody. Přiřazení konkrétních elektrodových dějů sledovaným jevům bude předmětem dalšího studia.

Literatura

- [1] Český lékopis 2009. Grada Publishing, vydáno na CD.
- [2] URL: <https://www.sigmaaldrich.com> (staženo 28.8.2013)
- [3] URL: <https://drugbank.ca> (staženo 28.8.2013)
- [4] Hofmann, A. F.; Roda, A., Physiological Properties of Bile-acids and Their Relationship to Biological Properties: An Overwiev of the Problem. *Journal of Lipid Research* 25, 1477–1489 (1984).
- [5] Mukhopadhyay, S.; Maitra, U., Chemistry and Biology of Bile Acids. *Current science* 87, 1666–1683 (2004).
- [6] Pecková K., Nesměrák K. : Electrochemistry of Bile Acids, Cholesterol, and Related Compounds. *Sensing in Electroanalysis* 7, 87–96 (2012).
- [7] Hofmann, A. F.; Hagey, L. R., Bile Acids: Chemistry, Pathology, Biology, Pathobiology, and Therapeutics. *Cellular and Molecular Life Sciences* 65, 2461–2483 (2008).
- [8] Ferri T.; Campanella L.; De Angelis G.; Differential-pulse Polarographic Determination of Cholic Acids. *Analyst* 109, 923–925 (1984).
- [9] Griffiths W. J.; Sjövall J.; Bile acids: Analysis in Biological Fluids and Tissues. *Journal of Lipid Research* 51, 23–41 (2010).
- [10] Scalia S.; Tirendi S.; Pazzi P.; Bousquet E.; Assy of Free Bile Acids in Pharmaceutical Preparations by HPLC with Electrochemical Detection. *International Journal of Pharmaceutics* 115, 249–253 (1995).
- [11] Roda A.; Minutello A.; Angellotti M. A.; Fini A.; Bile acid Structure-activity Relationship: Evaluation of Bile Acid Lipophilicity Using 1-octanol/water Partition Coefficient and Reverse Phase HPLC. *Journal of Lipid Research* 31, 1433–1443 (1990).
- [12] Cabral D. J.; Hamilton J. A.; Small D. M.; The Ionization Behavior of Bile Acids in Different Aqueous Environments. *Journal of Lipid Research* 27, 334–343 (1986).
- [13] Barek J.; Opekar F.; Štulík K.; *Elektroanalytická chemie*, Univerzita Karlova v Praze, Karolinum, Praha, 2005

- [14] Opekar F.; Jelínek I.; Rychlovský P.; Plzák Z.; *Základní analytická chemie*, Univerzita Karlova v Praze, Karolinum, Praha, 2003
- [15] Yosypchuk O.; Karásek J.; Vyskočil V.; Barek J.; Pecková K.; The Use of Silver Solid Amalgam Electrodes for Voltammetric and Amperometric Determination of Nitrated polyaromatic Compounds Used as Markers of Incomplete Combustion. *The Scientific World Journal* [online] 2012, 1-12 (2012).
- [16] Danhel A.; Barek J.; Amalgam Electrodes in Organic Electrochemistry. *Current Organic Chemistry* 15, 2957–2969 (2011).
- [17] URL: <https://www.hmde.com> (staženo 28.8.2013)
- [18] Polaro-Sensors, Praha, ČR